UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932—1933 N° 93.

CONTRIBUTION

à l'Etude chimique de la Mœlle Osseuse.

Thèse

présentée et soutenue publiquement le Juin 1933
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

M. LURIÉ
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse :

MM. E. LABORDE, Professeur, Président
E. LOBSTEIN, Professeur
CH. LAPP, chargé d'un cours
} Juges

IMPRIMERIE DES ARTS - SUSSMANN - STRASBOURG
1933

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932—1933 — N° 93.

CONTRIBUTION

à l'Etude chimique de la Mœlle Osseuse.

Thèse

présentée et soutenue publiquement le Juin 1933
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

M. LURIÉ
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse :

MM. E. LABORDE, Professeur, Président
E. LOBSTEIN, Professeur
CH. LAPP, chargé d'un cours } Juges

IMPRIMERIE DES ARTS - SUSSMANN - STRASBOURG
1933

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. LOBSTEIN, *Doyen*, ✻, ⚚, I. ✪ ❁
A. SARTORY, *Assesseur*, C. ✻, I. ✪, O. ❁.
CUVIER, *Secrétaire*, A. ✪

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ❁.

PROFESSEURS

MM.	JADIN, O. ✻, I. ✪, ❁	Pharmacie chimique
	A. SARTORY, C. ✻, I. ✪, O. ❁ ..	Bactériologie
	LAVIALLE, I. ✪, ❁	Botanique
	LABORDE, ✻, I. ✪	Chimie organique
	VOLMAR, I. ✪	Analyse chimique
	LOBSTEIN, ✻, ⚚, I. ✪, ❁	Matière médicale
	GUILLAUME, ✻, ⚚, I. ✪	Pharmacie galénique

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BRAEMER, ✻, I. ✪, O. ❁.
JADIN, O. ✻, I. ✪, ❁

CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ

M. R. SARTORY, ❁

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	LABORDE, ✻, I. ✪	Chimie biologique
	VOLMAR, I. ✪	Chimie minérale
	LOBSTEIN, ✻, ⚚, I. ✪, ❁	Hydrologie et Hygiène
	GUILLAUME, ✻, ⚚, I. ✪	Zoologie
	R. SARTORY, ❁	Cryptogamie
	COLLARD, I. ✪, ⚚	Toxicologie
	LAPP, A. ✪	Physique
	BRÆMER, ✻, I. ✪, O. ❁	Législation et Déontologie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, I. ✪, ⚚	Chimie et Physique
	R. SARTORY, ❁	Bactériologie et Parasitologie
	LAPP, A. ✪	Chimie pharmaceutique
	BOHN, ✪	Histoire naturelle

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A mon Cher Maître
et Président de Thèse

Monsieur le Professeur E. LABORDE

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Chevalier de la Légion d'honneur.

Hommage de respectueuse admiration
et de vive reconnaissance.

A mes Juges

Monsieur le Professeur E. LOBSTEIN

Doyen de la faculté de Pharmacie de Strasbourg

Chevalier de la Légion d'honneur

Monsieur Ch. LAPP

Chargé d'un Cours à la faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Hommages de ma très haute estime.

A Madame MARIE DREYFUS-BRODSKY

Monsieur JULES DREYFUS-BRODSKY

Monsieur PAUL DREYFUS-DE GUNZBURG

En témoignage de ma profonde gratitude.

A ma chère mère
et à mon cher père

Qui trouveront ici l'expression de ma reconnaissance filiale pour leur tendresse, leur bonté infinie et le témoignage de ma profonde affection.

A ma sœur et à mes frères.

A mes amis.

AVANT-PROPOS.

Les nombreux physiologistes et chimistes qui se sont intéressés à l'étude de la moelle osseuse ont réuni un faisceau varié de notions sur cet organe. Cependant les connaissances chimiques sont encore assez incomplètes. Néanmoins on emploie l'extrait de moelle osseuse en thérapeutique.

Il est aujourd'hui acquis que le parenchyme splénique opère pour les rendre assimilables, des mutations sur ceux des principes immédiats, qui dans les cellules de l'économie toute entière jouent un rôle principalement physique: les lipides et les matières minérales.

Nous avons donc jugé utile d'essayer dans cette modeste étude chimique d'apporter quelques éclaircissements sur la composition de la moelle osseuse.

Ce travail a été élaboré dans le laboratoire de Chimie organique et biologique. Qu'il nous soit permis de remercier bien vivement notre cher Maître, Monsieur le Professeur Laborde qui nous a proposé le sujet de cette thèse. Nous tenons à lui exprimer ici notre respectueuse gratitude pour l'intérêt avec lequel il a guidé notre travail, il nous a toujours témoigné sa plus grande bienveillance, qu'il veuille bien accepter nos sincères remerciements pour sa grande bonté.

Nous tenons aussi à exprimer à Monsieur le professeur Lobstein, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, ainsi qu'à Monsieur Lapp, chargé d'un cours à la Faculté de Pharmacie, le témoignage de toute notre reconnaissance pour le précieux appui qu'ils ont bien voulu nous prêter en suivant toujours nos efforts, et nous les remercions de l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'être membres du jury de cette thèse.

Nous exprimons également nos remerciements à Monsieur le professeur Volmar qui a bien voulu mettre à notre disposition l'appareil spectroscopique. Enfin, nous remercions aussi Monsieur Duquenois, assistant à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui ne nous a jamais ménagé ni son aide, ni ses conseils.

Quelques données générales sur la mœlle osseuse.

Bien que ce travail soit à peu près uniquement consacré à la composition chimique de la moelle osseuse il nous paraît indispensable de donner en quelques mots un aperçu de la physiologie de cet organe.

Nous empruntons ces détails au petit traité de Byla et Pénau (1). La moelle osseuse n'a pas la même composition chez le jeune que chez l'adulte. Chez l'animal jeune, la moelle est rouge et surtout au niveau des épiphyses, renferme des cellules de la série leucocytaire et de la série érythrocytaire. La première est représentée par les myélocytes qui donnent naissance aux divers types de leucocytes, la seconde par des globules nucléés, caryocinétiques, qui, en perdant ultérieurement leur noyau, deviennent des hématies normales. On y rencontre aussi des cellules géantes, à noyaux variés, auxquelles ont été attribuées sans certitude du reste, des propriétés endocriniennes. Chez le jeune, la moelle est rouge et riche en cellules, qui deviendront des globules blancs et rouges. Chez l'animal adulte, la moelle est jaune, parce que formée surtout de masses de graisse (50—80 % d'après Roger et Josué) entre lesquelles se logent en petite quantité des éléments analogues à ceux de la moelle rouge. Cette substitution de la graisse aux cellules actives est un effet régulier et constant de l'âge et c'est pourquoi en opothérapie, il convient de n'employer que des moelles d'animaux très jeunes

Pendant toute la période de développement la moelle osseuse en plein fonctionnement fournit aux besoins croissants de l'organisme, en globules rouges et blancs; puis, peu à peu son activité se ralentit et à la période adulte, elle se contente de parer normalement à l'usure des hémocytes. Mais si, pour une cause quelconque (hémorragies, hémolyse, infections, intoxications), le sang vient à s'appauvrir en éléments figurés, cet appauvrissement réagit sur la moelle, qui reprend son activité fonctionnelle,

(1) P. Byla et H. Pénau. — Les produits biologiques médicinaux. Maloine et Fils, éditeurs, Paris 1921.

redevient rouge et est le siège d'une multiplication d'hématies nuclées et de myélocytes (Bizzozero, Dominici). Cette réaction a donc pour but de protéger l'organisme contre une diminution de la valeur hématosique ou de la défense leucocytaire.

Détermination du Ph + de la poudre de moelle osseuse

La concentration en ions H + joue un rôle capital dans l'action dédoublante des enzymes. Nous avons adopté pour cette étude la méthode colorimétrique de Soerensen (1). Elle est basée sur l'aspect et la nature de la coloration communiquée par les indicateurs (phtaléines sulfonées) à un milieu donné suivant la valeur du Ph de ce milieu. Cette coloration est comparée à celles d'étalons traités dans les mêmes conditions par les mêmes indicateurs et correspondant à un Ph connu. Un indicateur est une substance qui subit un changement profond de constitution accompagnée d'un changement de couleur par la variation des ions H + dans le milieu où elle est dissoute.

Indicateurs de Clarc (2)	Noms chimiques usuels	Virage p. le passage de Ph à Ph	Limites de Ph
Thymolsulfone-phtaléine	Bleu de thymol	rouge-jaune	1,2—2,8
Tétrabromophénol sulfone phtaléine	Bleu de bromo-phénol	jaune-bleu	2,8—4,6
O-carboxybenzêne azo-diméthylaniline	Rouge de méthyle	rouge-jaune	4,4—6,0
Dibromo-o-crésol sulfone phtaléine	Pourpre de bromo-crésol	jaune pourpre	5,2—6,8
Dibromothymol sulfo-nephtaléine	Bleu de bromo thymol	jaune-bleu	6,0—7,6
Phénolsulfonephta-léine	Rouge de phénol	jaune-rouge	6,8—8,4
Orthocrésol sulfone-phtaéline	Rouge de crésol	jaune-rouge-violet	7,2—8,8
Thymosulfonephtaéline	Bleu de thymol	jaune-bleu	8,0—9,6

Avec ces produits on prépare des solutions colorantes: elles s'obtiennent en dissolvant 0 gr. 10 de colorant dans 500 cm^3

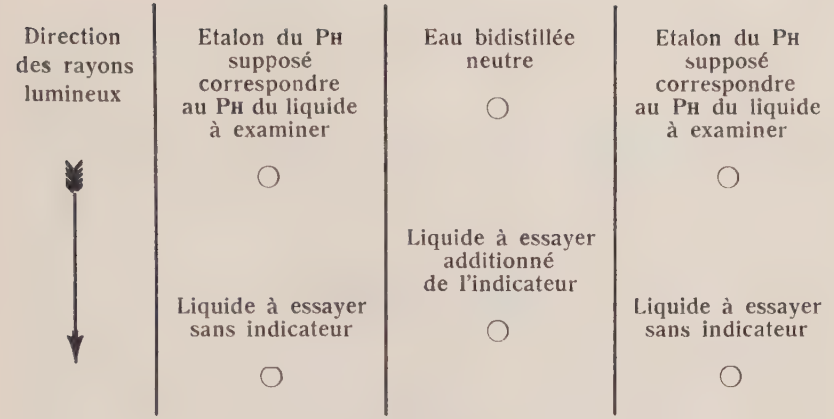
(1) Soerensen. Etudes Enzymatiques. C. R. du labor. de Carlsberg, 1909, VIII, livraison I.

(2) Clark. The Determination of hydrogen ions. Wiliams Co, Edit., Baltimore, 1922.

d'alcool à 95° et diluant à 800 cm³ avec de l'eau bi-distillée neutre. Ces solutions s'emploient à 0 cm³ 5 pour 10 cm³ de liquide en expérience. L'eau distillée neutre est obtenue par une première distillation après addition de quelques cm³ d'une solution de bichromate de potassium additionnée elle-même d'acide sulfurique. Cette distillation est suivie d'une seconde en présence de baryte. L'eau bi-distillée ainsi obtenue est conservée en ballon de verre bien fermé. Si l'eau se charge de CO^2 et devient légèrement acide, nous portons doucement à l'ébullition et laissons refroidir avant utilisation.

Préparation des solutions étalons. — Pour l'obtention des solutions tampons nous nous sommes adressés aux mélanges de phosphates et aux mélanges de citrates.

Technique de la détermination du Ph. — On place 0 gr. 50 de poudre d'organe dans 50 cm³ d'eau bi-distillée sensiblement neutre (Ph=6,6) et on ajoute 5 gouttes de toluène et abandonne à l'étuve à 37° pendant 24 heures. On filtre. En même temps on fait digérer 50 cm³ d'eau distillée avec 5 gouttes de toluène à l'étuve à 37°. On filtre et détermine la concentration en ions hydrogène de ces filtrats. A cet effet, on se sert des étalons colorés et salins de composition et de Ph connus. On détermine d'abord la valeur approximative du Ph par l'indicateur nommé rouge-Congo (qui se compose de phénolphtaléine 10 mmgr., rouge carmin 20 mmgr., alcool q. s. pour dissoudre et eau distillée q. s. pour avoir 1000 cm³). Ainsi nous avons trouvé que la valeur du Ph est comprise entre 4 et 8 pour les solutions en question. Entre ces deux couleurs extrêmes, on peut observer toute une série de teintes dites sensibles, chacune correspondant à une valeur déterminée de Ph. Nous déposons dans une série de tubes à essais environ 2 cm³ du liquide à essayer et 2 gouttes de chaque colorant. Le bleu de bromophénol, le bleu de bromothymol, le rouge de méthyle donnent dans notre cas immédiatement la teinte limite. Ce permier essai nous permet d'arrêter notre choix sur le bromocrésol pourpre. Nous comparons la teinte obtenue avec une série de tubes colorés tampons, en s'aidant du comparateur sous forme d'un support maintenant les tubes inclinés à 35°-40° sur un fond horizontal blanc, suivant le tableau ci-dessous:



Observateur.

En opérant ainsi, nous avons trouvé pour notre échantillon, avec le bromocresol pourpre un $Ph=6,4$ et par rapport avec le bromo-thymol bleu un $Ph=7,1$.

Étude de matières minérales.

I. Recherches qualitatives.

Nous nous sommes servis pour l'analyse qualitative des métaux du spectromètre de Jobin et Yvon (1). La méthode est basée sur le principe que les radiations émises par un corps sont caarctéristiques de ce corps, et leur ensemble constitue le spectre d'émission du corps. Cinq grammes de poudre de moëlle osseuse ont été calcinés au moufle dans un creuset en platine au rouge sombre. Cette opération est continuée jusqu'à calcination complète. Les cendres sont alors légèrement verdâtres avec des points rouges sur les parois du creuset. On laisse refroidir et pulvérise les cendres. Ensuite, on les mélange avec 1/3 de leur poids de charbon pur. Pour la détermination, on remplit les cavités des électrodes avec ce mélange. Nous avons utilisé des électrodes en charbon purifié parce que les électrodes en argent et en platine nous ont donné de très mauvais résultats. Les premiers gênaient par la grande intensité du spectre propre à l'argent. Les électrodes en platine fondaient. Au moyen du spectromètre, nous avons pu constater dans les cendres de moëlle osseuse les métaux suivants :

Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Ti, As, Cu, Zn, Ni, Co

compte tenu des causes perturbatrices dues au charbon.

II. Recherches quantitatives

1. DOSAGE DE L'HUMIDITE

Nous avons dosé l'humidité en chauffant à 105° 5 grammes de poudre de moëlle osseuse jusqu'à poids constant. L'échantillon étudié contient 8,8 % d'humidté.

(1) Byla et Pénau. Les Produits Biologiques Médicinaux. Maloine et Fils, Editeurs, Paris, 1921.

2. DOSAGE DES CENDRES

a.) Dosage des cendres solubles.

Pour cela, nous avons eu recours à la méthode indiquée par Fabre et Penau (2) qui consiste à épuiser par de l'eau distillée bouillante employée à plusieurs reprises, la substance préalablement calcinée à la lampe à alcool. Les solutions ainsi obtenues sont séparées par décantations filtrées sur un filtre sans cendre et réunies. Le résidu charboneux est lavé, le liquide est versé sur le filtre et on continue ce traitement jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par l'azotate d'argent. A ce moment, le charbon est entraîné sur le filtre et on lave une dernière fois. Le filtre et le charbon qu'il contient sont desséchés à l'étuve à 100° et serviront au dosage des cendres insolubles. Quant au filtrat et eaux de lavage on les évapore à siccité (au B.M.) dans une capsule tarée. L'augmentation de poids de la capsule donne la quantité des cendres solubles existant dans la prise d'essai: 100 grammes de poudre de moelle osseuse renferment 2,93 gr. de cendres solubles.

b,) Dosage des cendres insolubles

Le résidu charbonneux du dosage des cendres solubles est calciné au moufle jusqu'à obtention de cendres blanches. 100 grammes de poudre de moelle osseuse contiennent 3,12 gr. de cendres insolubles.

c.) Dosage des cendres totales

La somme des cendres solubles et insolubles nous donne le poids des cendres totales renfermées dans la moelle osseuse: il est de 6,05 gr. %.

d.) Dosage de l'alcalinité.

Ce dosage a été pratiqué sur les cendres insolubles; à cet effet, le résidu est traité par un excès d'acide sulfurique décinormal, porté au B. M., puis filtré. L'excès d'acide sulfurique est dosé par une solution de soude décinormale en présence d'hélianthine comme indicateur. L'alcalinité est exprimée en carbonate de soude; elle est 0,65 gr. pour 100 gr. de poudre de moelle osseuse.

(2) Fabre R. et Penau H. Examens chimiques des poudres opothérapiques. Journ. Pharm. et Chim. (8), 1923, xxvii, p. 281.

c.) Dosage des chlorures.

Le résidu salin (cendres solubles) est redissout dans l'eau distillée aiguisée par l'acide azotique à 5 p. 100. On ajoute à cette liqueur un excès de nitrate d'argent décinormal. L'argent en excès est titré à l'aide d'une solution de sulfocyanure de potassium décinormale en présence d'alun de fer, suivant la méthode de Charpentier-Volhard. La quantité de chlorure de sodium trouvée dans 100 gr. de poudre de moelle osseuse est 0,86 gr.

3. DOSAGE DU SODIUM.

Pour le dosage de très petites quantités de sodium en biologie, on utilise à présent deux réactions également intéressantes. La première repose sur la formaton d'un composé insoluble obtenu à l'aide du pyroantimoniate de potasse réagissant sur les sels de sodium. La seconde a été découverte par Streng (3) et a été appliquée à une méthode pondérale par Blanchetière (4); elle consiste à former un acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium

$$3\,(C^2H^3O^2)^2UO^2,(C^2H^3O^2)^2Mg,(C^2H^3O^2)Na,9H^2O.$$

qui est insoluble dans le milieu où il se forme et dans l'alcool à 95°; ce dernier dissolvant au contraire parfaitement les acétates d'uranyle et de magnésium du réactif.

Nous avons adopté la méthode de Blanchetière. Elle a été discutée dans de nombreux travaux, et en particulier dans ceux de Laudat (5), de Grabar (6) et de Kahane (7). Ces auteurs ont tâché de montrer les grandes erreurs qui peuvent se produire au cours d'une exécution défectueuse de la technique prescrite. Mais il y a lieu de faire observer que la présence des métaux autres que le sodium dans les cendres ne trouble pas

(3) Streng. Ueber die Ausführung einiger mikrochemischer Reaktionen Zeitsch. für analyt. Chemie, 1885, XXIII, p. 115 et Chem. Zentralblatt, 1886, p. 488.

(4) Blanchetière A. Sur une méthode de dosage du sodium. Bull. Soc. Chem. 1923, XXXIII, p. 807.

(5) Laudat M. Etude des méthodes récentes de dosage du sodium et de leur application à la biologie. Bull. Soc. Chim. biol. 1928, X, p. 575.

(6) Grabar P. Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Chim. biol. 1929 XI, p. 58.

(7) Kahane F. Le dosage du sodium par la méthode à l'uramyle. Bull. Soc. Chim. de France, 1930, XLV, p. 382 et 193.

le dosage. L'acide phosphorique seul est un élément perturbateur; on doit donc l'éliminer.

Il faut, au préalable, détruire les matières organiques : 1 gr. de poudre a été traité par 10 cm^3 de mélange suivant : 4 cm^3 d'acide nitrique fumant (densité 1.49), 2 cm^3 d'acide perchlorique (densité 1,615) et 2 cm^3 d'eau distillée. On chauffe avec précaution jusqu'à ce que la solution devienne incolore. L'oxydation est terminée en deux heures et demie. On neutralise alors avec de l'ammoniaque et chauffe au B. M. On filtre le précipité (constitué par des oxydes hydratés de métaux lourds), on le lave soigneusement; ensuite on porte la solution à 25 cm^3 dans une fiole jaugée, par addition d'eau; 20 cm^3 de cette liqueur sont centrifugés. On précipite l'acide phosphorique par un excès connu de liqueur acétique d'acétate d'urane que l'on mélange et abandonne jusqu'à floculation nette. A ce moment, on centrifuge de nouveau; on prélève une fraction correspondante à 0 gr. 40 de la prise d'essai et on l'introduit dans 10 fois son volume de réactif urano-magnésien. On laisse reposer, on filtre et lave le précipité comme l'ont indiqué les différents auteurs mentionnés ci-dessus. On dessèche à l'étuve à 110°, on laisse refroidir et pèse. 1 gramme du précipité correspond à 0 gr. 015 de sodium.

Nous avons ainsi trouvé 0,504 gr. de sodium pour 100 gr. de poudre de moelle osseuse, ou 0,67 % gr. exprimés en oxydes de sodium (Na^2O).

4. DOSAGE DU POTASSIUM

Pour le potassium, nous nous sommes servis du procédé de Garola et Braun (8), qui consiste essentiellement à faire agir le cobaltinitrite de sodium sur la potasse, ce qui donne du cobaltonitrite de potassium.

Nous avons commencé par détruire la matière organique de 5 gr. de poudre de moelle osseuse suivant la technique indiquée pour le sodium. Puis, nous avons débarrassé la solution parfaitement limpide des autres métaux par le carbonate de sodium. Le filtrat est concentré à petit volume, acidifié par l'acide acétique et additionné d'un excès de réactif de nitrite co-

(8) Carola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse. Annales des fabrications 1917, p. 572.

balti-sodique. Le mode opératoire est très important pour assurer la fixité de la composition du précipité. Ce dernier répond à la formule :

$$K, Na, Co, 6\ NO^2, H^2O.$$

Le précipité est laissé au repos 12 heures en vase bien bouché; ensuite, nous avons filtré dans un creuset taré de Gooch. Le précipité est lavé avec de l'eau distillée additionnée de 10 % d'acide acétique jusqu'à ce que le liquide passe parfaitement incolore, puis une fois avec l'alcool à 95°, afin d'enlever l'eau et de faciliter la dessication. Le creuset est desséché à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant et pesé. En tenant compte des poids moléculaires, le poids du précipité est multiplié par le facteur 0,2074 correspondant au P. M. du sel cobaltique potassique. Nous avons constaté que 100 gr. de la moelle osseuse étudiée renferment 1,12 gr. de potassium exprimé en oxyde de potassium (K^2O).

5. DOSAGE DU CALCIUM.

Nous avons suivi pour ce dosage une méthode qui se base sur les faits que les sels de calcium donnent avec l'acide oxalique ou les oxalates solubles, un oxalate insoluble dans l'eau, Au moyen d'une solution de permanganate de potassium, nous avons déterminé volumétriquement la quantité d'acide oxalique et, par voie de conséquence, la chaux qui lui était combinée. La matière organique (soit 8 gr. de poudre de moelle osseuse) a été détruite par 40 cm^3 d'un mélange de 35 cm^3 d'acide sulfurique pur à 66° et de 65 cm^3 d'acide perchlorique pur (densité 1,615) suivant la méthode de Lematte, Boinot et Kahane.

L'ébullition est régularisée au moyen de billes de verre. Le chauffage se fait avec précaution jusqu'à désagrégation, puis à feu nu jusqu'à élimination des vapeurs. La solution limpide additionnée de deux gouttes d'une solution à 1 % d'hélianthine est précipitée par de l'ammoniaque. On dissout ce précipité dans une solution saturée et chaude de chlorure d'ammonium et de citrate d'ammoniaque. On ajoute alors 2 cm^3 d'une solution saturée d'acide oxalique et on fait virer au rouge l'hélianthine par l'acide chlorhydrique. On ramène à la neutralité par l'ammoniaque, puis ajoute goutte à goutte

2 cm³ d'une solution bouillante d'oxalate d'ammoniaque. Le précipité est alors dense et à l'état de grains cristallisés suffisamment gros, pour ne pas traverser le filtre et par conséquent pour être retenu par ce dernier. On filtre, on lave le précipité avec de l'eau froide jusqu'à ce que le liquide filtré ne décolore plus sur une solution étendue de permanganate de potasse. Le précipité d'oxalate de chaux est alors dissous dans de l'acide sulfurique à 6 % ; la solution est chauffée à 60° et titrée par une solution de permanganate de potasse à 0 gr. 160 pour 1.000 cm³. 1 cm³ de cette solution correspond à 1 mgr. de CaO ou à 1 mgr. 321 de Ca (O H)². Nous avons ainsi constaté que 100 gr. de notre poudre contiennent 0,04947 gr. de chaux hydratée, ce qui correspond à 0,03745 gr. d'oxyde de calcium.

6. DOSAGE DE LA MAGNESIE

La solution privée de la chaux est concentrée à un faible volume et neutralisée par la soude, puis acidifiée par quelques gouttes d'acide chlorhydrique, additionnée de phosphate de soude et d'un excès d'ammoniaque. Il se forme un précipité cristallin de phosphate ammoniaco-magnésien qui, par calcination, se transforme en pyrophosphate de magnésium. On pèse. Le poids de ce sel multiplié par 0,21839 donne en magnésium le résultat; par 0,36207 celui en Mg O.

100 gr. de poudre de moelle osseuse renferment 0,138 gr. d'axyde de magnésium (Mg O).

7. DOSAGE DU FER.

Nous avons suivi, en principe, la méthode indiquée par Scagliarini et Pratesti (9). Elle consiste en une réduction quantitative du Fe''' en Fe'' par le cuivre métallique, en présence d'acide sulfurique et réoxydation ultérieure au moyen du permanganate de potasse. Nous avons effectué la destruction des matières organiques de 5 gr. de poudre de moelle osseuse suivant la technique énoncée lors du dosage du sodium. La solution ferrique est mise dans un vase de 800 cm³ contenant 250 cm³ d'eau distillée. On ajoute 15 cm³ d'acide sulfurique concentré et chauffé. On introduit, quand le liquide est entré en ébullition, une spirale de cuivre attachée à une baguette de verre

(9) Scagliarini et Patresti. Méthode rapide de dosage du fer. Ann. chimie, applicat. 1929 xix, cité par Bull. Soc. Chim. biol., 1929 xxxxvi, p. 1156.

et on continue l'ébullition pendant 15 minutes. On laisse refroidir et on ajoute au liquide quelques cristaux de carbonate de sodium. On étend avec de l'eau jusqu'à 400 à 500 cm^3 et l'on titre à froid avec du permanganate de potassium. N/20. Nous avons trouvé 0,0056 % Fe^2O^3.

8. DOSAGE DU MANGANESE.

Le manganèse se trouve très répandu dans le règne animal (10) et le règne végétal (11) et tient une place prépondérante parmi les éléments catalytiques par son rôle activateur des phénomènes enzymatiques. M. Jadin et Astruc ont analysé de nombreux végétaux et ont montré que la présence du manganèse est constante chez les plantes. Le dosage est effectué selon la technique de G. Bertrand et Rosenblatt (12) dont le principe consiste à transformer le manganèse en permanganate de potassium à comparer l'intensité de la coloration obtenue avec une gamme de solutions étalons contenant des quantités connues de manganèse semblablement traité.

La matière organique de 5 gr. d'extrait de moelle osseuse a été détruite par incinération au rouge sombre. Le manganèse se trouve alors à l'état de sesquioxyde. Les cendres sont dissoutes dans l'acide chlorhydrique concentré, évaporées au B. M. et calcinées de nouveau sans dépasser le rouge sombre. Les sulfates étant moins solubles que les chlorures, les dernières traces de charbon ont disparu alors facilement et tout le manganèse est passé à l'état soluble. Les cendres sulfatées sont dissoutes dans l'acide azotique au 1/3, transformées en permanganate au moyen du persulfate de potassium en présence d'azotate d'argent et amenés à un volume déterminé par addition d'acide azotique au tiers.

Pour le dosage colorimétrique, une solution-mère est préparée, renfermant 4 gr. 054 de sulfate de manganèse

(10) Bertrand G. et Medigreceanu. Recherches sur la présence du manganèse dans la série animale. Bull. Soc. Chim. 1912, XI, p. 834, 857.

(11) Jadin F. et Astruc A. La répartition du manganèse dans le règne végétal. Journ. Pharm. et Chim. 1913, VII, p. 155.

(12) Bertrand G. et Mme Rosenblatt. Recherches et dosage de petites quantités de manganèse en particulier dans les substances organiques. Bull. Soc. Pharmacologiques, 1911, p. 195 et Bull. Soc. Chim. 1911, IX, p. 361.

($MnSO^4$ $4H^2O$)

soit 1 mmgr. par cm^3.

Une série de tubes est établie alors en présence de persulfate de potassium, de nitrate d'argent, d'acide azotique et portée à l'ébullition. Le tube contenant le manganèse à doser est comparé à la gamme colorée (teinte rose). Cette méthode est d'une sensibilité extrême; mais elle ne réussit qu'avec des solutions extrêmement diluées en maganèse, sans cela il se forme du bioxyde de manganèse qui est brun-jaunâtre. Nous avons décelé 0,0025 gr. % de manganèse.

9. DOSAGE DU TITANE

Le titane est très diffusé dans la nature. (13).

Le dosage et la recherche du titane dans la solution sulfurique des cendres ont été effectués d'après la méthode de Weller (14) basée sur la réaction de Schön (15), c'est-à-dire sur la transformation du titane en acide pertitanique, de couleur jaune-orangée, au moyen du peroxyde d'hydrogène et l'intensité de la coloration est comparée à celle d'une solution étalon. 5 gr. de moelle osseuse ont été calcinés dans une capsule de platine. Pour volatiliser tout le silicium, on reprend les cendres par quelques *cm^3 d'eau*, additionnés d'acide sulfurique et d'acide fluorhydrique concentré et l'on évapore à sec au B. M. On chauffe le résidu sur une petite flamme avec quelques cm^3 d'acide sulfurique concentré jusqu'à production de fumées épaisses. Après refroidissement, le contenu de la capsule est repris par de l'acide sulfurique dilué et transvasé dans une fiole jaugée de 50 cm^3.

La dissolution n'a pas été complète, un léger trouble s'est produit qui est dû probablement à du sulfate de calcium. D'après Walton (16) et Faber (17), l'acide phosphorique empêche la

---

(13) Bertrand G. et Mme Voronca-Spirt. Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames. Bull. Soc. Chim. 1929, XLV, p. 1044.

(14) A. Weller. Recherches et dosage du titane. Berichte der Chem. Gesellschaft, 1882, XV, p. 2592.

(15) Schön. Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds zu Molybdäm und Titansäure. Zs. für analyt. Chemie 1870, XI, p. 41, 330.

(16) Walton. Zs. für analyt. Chemie, 1871, IX, p. 41 et 330.

(17) Faber. Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen. Chem. Zeitung, 1907, p. 263.

réaction du peroxyde d'hydrogène. G. Bertrand et Mme Voronca-Sport le contestent. Les sels de fer, par contre, gênent la détermination du titane en donnant d'eux-mêmes une coloration jaune. On pare à cet inconvénient en transformant les sels ferriques en complexes incolores par addition convenable d'une solution de phosphate acide de potassium titrée (à 0,25 de sel par cm^3). On ajoute cette liqueur à la solution acide des cendres, colorée en jaune, jusqu'à décoloration et l'on en tient compte en ajoutant à la solution de titane titrée qui sert de terme de comparaison. Pour le dosage colorimétrique, on prépare une solution étalon, on dissout 0 gr. 25 d'oxyde de titane dans un litre d'acide sulfurique à 5 % en chauffant et on ajoute de l'acide fluorhydrique pour faciliter la dissolution.

On verse des volumes croissants et connus dans des tubes contenant la même quantité d'acide phosphorique à l'état de phosphate acide de potassium qui se trouve dans la solution de cendres étudiée. On ajoute ½ cm^3 d'eau oxygénée et l'on complète avec de l'acide sulfurique à 5 %.

D'autre part, on filtre la solution de cendres à travers un filtre préalablement lavé avec quelques cm^3 d'acide sulfurique à 5 %, on ajoute à un volume connu 1/2 cm^3 d'eau oxygénée pure (100 vol.) et l'on complète à un volume déterminé avec de l'acide sulfurique à 5 %. La coloration jaune apparaît immédiatement. La méthode est très sensible.

Nous avons constaté ainsi que 100 gr. de la poudre de moelle osseuse renferment 0 gr. 001 en oxyde de titane ($Ti\ O^2$).

10. RECHERCHE DE L'ARSENIC.

Il nous a semblé intéressant de rechercher l'arsenic dans notre poudre de moelle osseuse, quoique les travaux de Gautier montrent qu'il n'y existe pas en quantité telle qu'on puisse le doser.

La destruction de la matière organique a été effectuée dans une grande capsule par le mélange nitro-sulfurique à chaud et au bain de sable. La masse calcinée est traitée par de l'eau distillée bouillante, la liqueur filtrée, après refroidissement, donne un filtrat limpide et brun. Par quelques gouttes de solution de bisulfite de soude, on réduit l'acide arsénique à

l'état d'acide arsénieux, dont la précipitation par l'hydrogène sulfure est plus rapide (18). La solution est concentrée au B. M. pour chasser l'excès d'anhydride sulfurique, puis soumise sans filtration et pendant 6 heures à un courant lent d'hydrogène sulfuré purifié. Après 24 heures de repos, le précipité de sulfure est recueilli sur un petit filtre sans plis. On le dissout dans de l'ammoniaque dilué et tiède. La solution ammoniacale est évaporée doucement à siccité au B. M. dans une capsule de porcelaine; le résidu noir obtenu est oxydé à chaud par quelques centimètres cubes d'acide azotique, additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique. Le sulfure d'arsenic passe à l'état d'acide arsénique et l'excès de soufre s'oxyde et se transforme peu à peu en acide sulfurique. On continue de chauffer au bain de sable jusqu'à émission de fumées blanches d'acide sulfurique. La liqueur est alors étendue d'une petite quantité d'eau distillée, puis introduite dans l'appareil de Marsch, modifié par M. Jadin (19), le flacon Wolf, producteur d'hydrogène, étant remplacé par un flacon dont le dispositif spécial permet d'éliminer complètement toute trace d'oxygène. Avec cet appareil d'une extrême sensibilité, MM. Jadin et Astruc ont obtenu des anneaux avec un millième de milligramme d'arsenic. Nous avons, dans ces conditions, obtenu un anneau très peu coloré, par conséquent la quantité d'arsenic contenu dans notre poudre n'existe qu'à l'état des traces.

11. DOSAGE DU CUIVRE.

La présence du cuivre dans l'organisme animal et végétal, considérée d'abord comme accidentelle, a été ensuite reconnue normale à la suite de nombreux travaux. (20).

Universellement répandu dans la terre, ce métal s'accumule chez les végétaux, de préférence là où il y a davantage d'eau. Chez les animaux, les globules du sang en contiennent trois fois plus que le plasma. Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus pour le zinc; mais pour le cuivre, les différences sont

(18) Ogier et E. Kohn-Abrest. Traité de Chimie. Traité de Chimie toxicologique 1924, T. I. p. 542. E. Kohn-Abrest. Méthode générale de recherches et dosage d'arsenic C. R. Ac. Sc. 1920, 171, p. 1179-82.

(19) Jadin F. et Astruc A. Journ. Pharm. et Chim. 1912. V. p. 233.

(20) Dubois R. Sur le cuivre dans la série animale. C. R. Soc. Biol. 1900, série II, p. 392.

moindres entre le plasma et les globules. Nous avons préféré détruire la matière organique en milieu liquide. (21). La poudre de moelle osseuse est introduite dans un matras à long col, on chauffe jusqu'à ébullition avec 100 gr. d'acide sulfurique pur, dans lesquels on a laissé couler peu à peu 100 gr. d'acide azotique. Lorsque la destruction des substances organiques est complète, la solution acide est évaporée à sec dans une capsule de porcelaine. Le résidu est arrosé d'HCl concentré, on évapore, on reprend par l'eau acidulée, par l'acide chlorhydrique, on filtre.

Le filtrat est versé dans l'ammoniaque pure et en quantité telle que le mélange final renferme 20 à 25 % de la solution ammoniacale saturée. On ajoute de l'eau oxygénée pour peroxyder le Mn et assurer sa précipitation. On filtre, on redissout le précipité dans l'acide chlorhydrique concentré et on recommence la précipitation par l'ammoniaque et l'eau oxygénée. On réunit les liqueurs ammoniacales, on les porte à l'ébullition, on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine et on y introduit peu à peu une quantité de lait de chaux suffisante pour libérer totalement l'ammoniaque combiné; on maintient l'ébullition jusqu'à ce que les vapeurs ne bleuissent plus le papier de tournesol et que la liqueur soit rose, sinon, on ajouterait à nouveau un lait de chaux (opération très importante). Quand toute l'ammoniaque est éliminée, on redissout le précipité adhérent aux parois et celui qui est contenu sur le filtre avec HCl à 1/10. Après lavage, le filtre est séché et brûlé; les cendres sont dissoutes dans un peu d'HCl. On évapore presque à sec, reprend par l'eau et réunit le liquide à la solution principale; la solution chauffée légèrement est traitée par un courant d'hydrogène sulfuré, puis abandonnée plusieurs heures, bouchée pour que le sulfure de civre flocule complètement. Après centrifugation prolongée, on dissout le sulfure de cuivre recueilli sur un petit filtre dans une petite quantité d'acide nitrique pur, on évapore, on calcine le nitrate de cuivre formé dans une petite capsule de quartz, on redissout l'oxyde résiduel dans trois gouttes d'HCl pur.

On fait passer la solution dont le volume, y compris les eaux de lavage, ne doit pas dépasser 2 cm^3 dans un tube de

(21) G. Bertrand et M. Mokragnatz. Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de cuivre, de zinc, de nickel, et de cobalt. Bull. Soc. Chim. T. XXXIII, p. 1539, 1923.

petit calibre bouché; on ajoute 2 gouttes de solution de sulfate de zinc à 1,1 % et, après agitation, 1 goutte de ferrocyanure de potassium à 10 %; agiter alors une minute. Laisser au repos une demi-heure et centrifuger pour rassembler le précipité, dont la coloration est comparée avec celles des précipités obtenus dans les mêmes conditions et contenant des quantités connues de cuivre.

Le volume évalué en gouttes qu'il faut employer de cette dernière solution pour obtenir la même teinte fait connaître à 2-3 millièmes de milligramme près la quantité de cuivre cherchée, Nous avons ainsi trouvé : 0,015 % de cuivre.

12. DOSAGE DU ZINC.

Le zinc, d'une importance capitale dans l'alimentation des animaux (22) se rencontre en proportions notables et d'une façon constante dans les tissus. La teneur en zinc varie non seulement d'un organe ou d'un tissu à un autre, mais elle varie encore dans le même organe suivant l'individu. L'influence de l'âge se fait également sentir.

Le liquide acide, séparé du sulfure de cuivre, est évaporé à sec. Le résidu est repris par de l'eau chaude et filtré dans une petite fiole conique. La capsule et le filtre sont bien lavés. La solution est alcalinisée très légèrement par l'ammoniaque, puis acidulée franchement par l'acide citrique (40 à 50 gauttes d'une solution d'acide citrique au 1/10). La liqueur est alors saturée par H^2S; on laisse reposer 24 heures avant de filtrer. Le sulfure est alors dissous dans l'acide sulfurique au 1/20. La solution est évaporée au B.M. puis à feu nu dans une capsule de platine. On pèse le sulfate anhydre, dont le poids, multiplié par 0,4025 donne la quantité de Zn dans la substance analysée.

Nous avons trouvé: 0,0094 % de Zinc.

13. DOSAGE DU NICKEL ET COBALT.

Il est démontré que le nickel et le cobalt existent partout dans la terre arable et qu'une certaine proportion de ces mé-

(22) Bertrand et Benzon. Sur l'importance du zinc dans l'alimentation des animaux. Expériences sur la souris. C. R. Acad. Sc. 1922, T. 175, p. 289.

taux est absorbée par les plantes et se répand dans tous les organes. Ainsi engagés dans la matière vivante, le nickel et le cobalt ne peuvent manquer de s'introduire par l'alimentation dans le tube digestif de l'homme et des animaux.

Les travaux de G. Bertrand et M. Macheboeuf (23) ont montré que le cobalt et le nickel associés l'un à l'autre se trouvent dans plusieurs organes de l'homme et des animaux; chez les animaux on retrouve plus de cobalt que de nickel, c'est l'inverse chez les végétaux.

La liqueur citrique débarrassée de cuivre et de zinc, est additionnée d'ammoniaque et de quelques gouttes de sulfure d'ammonium. Après un repos de quelques heures on rassemble le précipité sur un petit filtre, on lave avec de l'eau contenant un peu de sulfhydrate d'ammoniaque en recouvrant l'entonnoir avec un verre de montre. On séche le filtre et le précipité et on les calcine dans une capsule de porcelaine. Le résidu est dissous dans HCl concentré. On évapore pour chasser l'excès d'acide et l'on reprend par l'eau distillée. On verse la solution dans un tube à essais et porte à l'ébullition et additionne d'un excès d'une solution alcoolique au 1/100 de dimethylglyoxime et alcanise par quelques gouttes d'ammoniaque au 1/10: le précipité filtré et desséché de nickel glyoxime, est alors dissous à chaud dans un peu de chloroforme et pesé après évaporation du solvant. Etant donné le poids de nickel difficile à déterminer avec précision à l'aide de la balance, nous avons dû user, pour apprécier ce poids, d'un artifice consistant à redissoudre la combinaison glyoximique rouge vif, rassemblée dans un petit volume de chloroforme (1 cm^3), laissant évaporer à l'air libre et comparant le résidu avec ceux fournis, dans des conditions semblables de précipitation, d'extraction et d'évaporation, par des quantités connues de nickel. De cette manière, on peut évaluer quantitativement 1/500 de milligramme de nickel.

Nous avons ainsi trouvé: 0,002 % de nickel.

L'eau mère, séparée après la précipitation du nickel par le diméthylglyoxime est évaporée à sec et débarrassée, par chauffage au rouge sombre dans un four à moufle, du réactif orga-

(23) G. Bertrand et M. Macheboeuf. Sur la présence de nickel et cobalt chez les végétaux et animaux. Comp. Rend. Acad. Sc. t. 180, p. 1380. Cité par Bull. Soc. Chim. T. 38, p. 1365, 1925.

nique et de l'ammoniaque. Le résidu est redissous à la température du B.M. dans HCl concentré; on évapore à sec, on reprend par l'eau et l'on amène la solution dans un petit tube calibré, avec l'eau de lavage au volume total de 2 cm^3, on ajoute alors 0,2 cm^3 de solution alcoolique de diméthylglyoxime à 1 % et 2 gouttes d'ammoniaque au 1/10, le liquide se colore immédiatement en jaune brunâtre s'il renferme 0,1 mgr. de cobalt, en jaunâtre faible, mais net, s'il en contient 0,01 mgr.

Après une heure d'attente, car la coloration du début s'affaiblit dans les premiers moments (après environ une demi-heure, la coloration ne change plus, on la trouve égale à celle d'un mélange préparé depuis la veille). On compare la coloration avec celles d'une gamme réalisée à l'aide de solutions titrées de cobalt et dilué convenablement pour avoir toute cette gamme volue.

La réaction est encore visible avec 0,002 mgr. de cobalt dissous dans 1 cm^3, surtout si l'on opère par comparaison avec un mélange exempt de métal. Avec seulement 0,001 mgr. de cobalt par centimètre cube, il n'y a plus de coloration; on observe seulement un léger virage perceptible au moment où tombe l'ammoniaque. Par suite de l'affaiblissement de la coloration durant ces premiers instants, la sensibilité de la réaction employée dans un but quantitatif se trouve ramenée au minimum de 0,005 mgr. par centimètre cube. A cette dilution, la faible coloration jaunâtre persistante est encore sûrement visible par comparaison avec un liquide sans cobalt.

Nous avons ainsi trouvé: 0,00025 % de cobalt.

14. DOSAGE DU SOUFRE.

Nous avons dosé le soufre total à l'état de sulfate de baryum. Pour cela la matière organique d'un gramme de moelle osseuse est détruite avec un mélange d'acide nitrique fumant, d'acide perchlorique et d'eau distillée selon la méthode indiquée pour le dosage du sodium.

La présence d'acide nitrique et d'acide perchlorique peuvent gêner la précipitation; on les élimine en évaporant la solution limpide à sec avec HCl au B.M. On redissout le résidu par 1 cm^3 d'HCl, étend la solution par de l'eau distillée et précipite les

métaux trivalents par un excès d'ammoniaque. On neutralise exactement le filtre par HCl puis on ajoute 1 cm^3 d'HCl. On verse dans le filtrat très dilué suivant la technique de Hintz et Weber (24) et porté à ébullition un jet d'une solution bouillante de chlorure de baryum. en agitant constamment. On filtre après un repos de 12 heures, on lave le précipité par l'eau bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par l'azotate d'argent (NO^3Ag), on sèche, calcine et pèse. Le poids de sulfate de baryum trouvé multiplié par 0,42043 donne la quantité d'acide sulfurique (SO^4H^2) contenue dans la prise d'essai (1 gr.); en multipliant par 0,34326, on exprimerait les résultats en anhydride sulfurique (SO^3); par 0,1375, on les exprimerait en soufre (S).

La poudre de moelle osseuse étudiée renferme: 1,923 % d'acide sulfurique (SO^4H^2) ou 0,7173 % de soufre (S).

Ce résultat représente la moyenne de trois dosages.

15. DOSAGE DU PHOSPHORE TOTAL

Nous avons dosé le phosphore à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien ($PO^4Mg\,NH^4$) en calcinant et pesant ce précipité à l'état de pyrophosphate de magnésium selon la technique indiquée par Woy (25).

La matière organique de 2 gr. de poudre de moelle osseuse a été détruite avec un mélange d'acide azotique fumant, d'acide perchlorique et d'eau distillée. On précipite d'abord les phosphates avec le molybdate d'ammonium, afin de les séparer à l'état plus ou moins pur. On mélange dans un becher la solution phosphorique neutre ou légèrement acidulée par l'acide nitrique, avec de l'azotate d'ammonium et l'acide azotique: on porte à l'ébullition; on fait bouillir dans un autre becher une solution de molybdate d'ammonium et réunit les deux liqueurs. Il se forme un précipité de phospho-molybdate d'ammonium jaune. On laisse reposer un quart d'heure. On décante la solution surnageante par filtration; on lave le précipité et on le redissout dans de l'ammoniaque à 8 %. On ajoute à nouveau de l'azotate

(24) Denigès F. Précis de Chimie analytique. Paris 1931, II, p. 31.

(25) F.-P. Traedwell. Manuel de Chimie analytique, t. 2, Dunod, 1924, p. 388.

d'ammonium et du molybdate d'ammonium, on porte à l'ébullition; on ajoute goutte à goutte de l'acide azotique, il se forme immédiatement un précipité qui est alors pur, de composition $(NH^4)^3\ PO^4$, $12\ MO\ O^3$, $2\ HNO^3$, $4\ H^2O$. On filtre, lave avec le précipité avec de l'eau contenant 1/20 de son volume de réactif molybdique. On filtre sans chercher à entraîner le précipité sur le filtre; on redissout avec de l'ammoniaque la portion contenue dans le filtre en faisant tomber la liqueur ammoniacale sur la portion principale du précipté. On ajoute après dissolution de la mixture magnésienne et on porte à l'ébullition. Pour finir on additionne de quelques gouttes de phénolphtaléine et de la solution ammoniacale jusqu'à apparition d'une teinte rose, puis on complète par 1/5 de son volume d'ammoniaque concentrée. On filtre, on dessèche et calcine le précipité ($PO^4\ Mg\ NH^4$) dans un creuset en platine. On a ainsi du pyrophosphate de magnésium. Le poids ainsi obtenu multiplié par le coefficient 0,6396 donne la quantité d'anhydride phosphorique (P^2O^5) correspondant à la prise d'essai; si on multiplie par 0,8534 on a la quantité de PO^4 et en multipliant par 0,287, le phosphore total.

Nous avons constaté que 100 gr. de moelle osseuse renferment 5,751 % d'acide phosphorique (PO^4H^3), ce qui correspond à 4,31 % d'anhydride phosphorique (P^2O^5) et 1,934 % de phosphore total (P).

16. DOSAGE DU PHOSPHORE LIPOIDIQUE.

La poudre de moelle osseuse est épuisée au moyen de l'alcool à 95° dans l'appareil à extraction continue de Kumagawa-Suto; en fait l'extraction pendant 8 à 9 heures consécutives, le liquide alcoolique est distillé sous pression réduite dans une fiole de Kjeldahl de 200 cm^3, le résidu est déshydraté par deux affusions successives d'alcool absolu (25 cm^3 chaque fois), on élimine l'alcool par la distillation. On reprend alors à deux reprises le résidu déshydraté par de l'éther anhydre (25 cm^3 chaque fois), on ne compte comme phosphore lipoïdique, que celui qui passe en solution éthérée. Le liquide éthéré est filtré dans une fiole de Kjeldahl de 100 cm^3, on distille l'éther, le résidu provenant de cette distillation est soumis à la destruction sulfonitrique et la liqueur obtenue sert au dosage du phosphore lipoïdique, selon la méthode indiquée pour le dosage du phosphore total.

Notre poudre de moelle osseuse contient 0,5642 % du phosphore lipoïdique.

17. DOSAGE DU PHOSPHORE NUCLEIQUE.

La poudre dont on a isolé les lipoïdes et qui se trouve dans la cartouche de l'appareil de Kumagawa-Suto est introduite dans un ballon Pyrex (de 250 cm^3) à col court et à fond rond et muni d'un réfrigérant à reflux. On ajoute 50 cm^3 d'une solution de chlorure de sodium à 15 gr. %, 2 à 3 billes de verre et on porte à une lente ébullition qu'on maintient 20 minutes. Pendant toute la durée de cette extraction chlorurée, on ramène dans le liquide par agitation les particules de matières, qui sont soulevées par la mousse; on peut détruire la mousse par quelques gouttes d'alcool octylique. On retire le ballon, on ajoute environ 30 billes de verre et on remplace le réfrigérant par un bouchon fermant le flacon, et on le soumet à une agitation mécanique pendant 2 heures. On laisse macérer pendant 4 heures, on filtre sur un papier filtré durci avec l'aide de la trompe à eau. Le filtrat sert pour le dosage du phosphore nucléique; on prend 25 cm^3 de cette solution dans un tube à centrifugation de 50 cm^3 et en agitant, on ajoute 8 à 10 gouttes d'HCl dilué de moitié. Il se forme un précipité blanc qui précipite et gagne le fond du tube; après une centrifugation de 30 minutes, on recueille le précipité qui surnage sur un filtre, on lave le tube à centrifugation et le filtre deux fois au moyen d'une pissette avec une solution de NaCl à 15 gr. %. Une partie du précipité nucléique reste sur le filtre et l'autre se trouve au fond du tube de centrifugation. Le précipité est dissous avec de l'acide sulfurique concentré et introduit dans une fiole Kjeldahl; on lave le tube à centrifugation avec de l'eau distillée, on procède à la destruction sulfonitrique et on fait le dosage du phosphore nucléique, selon la méthode indiquée pour le dosage du phosphore total. Notre poudre de moelle osseuse contient 0,4161 % du phosphore nucléique.

18. PRESENCE DU FLUOR.

Il nous a semblé intéressant de rechercher la présence du Fluor. 5 gr. de poudre de moelle osseuse ont été calcinés dans un creuset au rouge sombre jusqu'à obtention de cendres grises.

On les mélange avec de la silice précipitée dans un creuset de platine et fait une bouillie claire par addition de SO^4H^2 concentré. Le creuset est aussitôt recouvert d'une plaque de verre au centre de laquelle a été déposée une goutte d'eau. Au bout de quelques instants il se formait un anneau de silice par décomposition du fluorure de sodium: donc il y a présence du Fluor dans la poudre étudiée.

19. LE DOSAGE DU BROME ET RECHERCHE D'IODE.

De nombreux auteurs ont cherché à mettre en évidence le brome qui peut exister à l'état de combinaison dans les tissus animaux: leurs conclusions sont contradictoires. De tous leurs travaux, il reste que le brome n'a été décélé d'une façon certaine que dans quelques organes. Tous les dosages donnés manquent de précision et par conséquent il reste une grande incertitude sur le rôle et la répartition de cet élément dans l'organisme. M. A. Damiens (26) a repris l'étude sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Il a fait de nombreuses analyses de plusieurs organes de l'homme et de quelques animaux et a reconnu l'existence normale et constante du brome dans tous les organes examinés. Il était intéressant de rechercher ce même élément dans notre poudre de moelle osseuse. Nous avons employé la même méthode que l'auteur nommé ci-dessus, notamment la réaction et les modes opératoires adoptés par MM. Denigés et Chelle (27). La sensibilité de cette méthode est grande, la limite étant 0.005 mgr. de brome dans 10 cm^3 de solution examinée. Le dosage est fait colorimétriquement.

Nous avons ainsi décélé 0,0012 gr. % du brome.

Le même mode opératoire nous a permis au cours de nos recherches de brome, de constater l'absence d'iode.

Dans le métabolisme qui se passe dans l'intimité de nos tissus, nous ne savons pas à quel radical azoté ou hydro-carboné les différents métaux sont combinés. Nous ne savons pas non plus comment les métaux sont soudés dans les produits de dé-

(26) A. Damiens. Sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Bull. Soc. Chim. biol. 3, 1921, p. 95.

(27) Denigès et Chelle. — C. R. Acad. Sc. CLV, p. 1010, 1912 et Bull. Soc. Pharmacie de Bordeaux, LV, p. 75, 1917.

composition intraorganique. Aussi nous pouvons calculer nos résultats empiriquement en rapportant le poids des métaux à leur oxyde le plus habituel et les métalloïdes à leur acide correspondant. Nous n'estimons pas les chiffres trouvés pour les cendres en valeur absolue, parce qu'une partie du soufre et du phosphore doit nécessairement disparaître pendant l'opération.

COMPOSITION DE LA MOELLE OSSEUSE
POUR 100 GR. D'ORGANE SEC

Eau distillée (H^2O)	8,8
Cendres solubles	2,93
Cendres insolubles	3,12
Cendres totales	6,05
Alcalinité (en CO^3Na^2)	0,65
Chlorure de Sodium (Na Cl)	0,86
Oxyde de Sodium (Na^2O)	0,67
» » Potassium (K^2O)	1,12
» » Calcium (CaO)	0,3745
» » Magnésium (MgO)	0,138
» » Manganèse (MnO^2)	0,0025
» » Fer (Fe^2O^3)	0,0056
» » Cuivre (CuO)	0,015
» » Zinc (ZnO)	0,0094
» » Nickel (NiO)	0,002
» » Cobalt (CoO)	0,00025
» » Arsenic	traces
» » Titane (TiO^2)	0,001
Acide Sulfurique (SO^4H^2)	1,923
Acide phosphorique (PO^4H^3)	5,751
Acide Bromhydrique (BrH)	0,0012
Acide Jodhydrique (JH)	néant

DOSAGE DES LIPIDES.

On désigne sous le terme « lipides » toutes les substances que l'on peut extraire des humeurs et des tissus (animaux et végétaux) par les solvants habituels des graisses: éther, chloroforme, benzène, alcool, etc. André Mayer et G. Schaeffer (1) ont

(1) Mayer A. et Schaeffer G. Recherche sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de physiologie et Pathologie générale; 1913 xv, p. 510, 534, 775.

montré que le rapport de cholestérine aux acides gras ou coefficient lipocytique est caractérisétique de l'organe considéré et que la teneur d'un parenchyme en acides gras et cholestérine varie peu, de sorte qu'il y a une constante lipocytique. Il nous a paru intéressant de rechercher quelle était la teneur de notre poudre de moelle osseuse en acides gras et en cholestérine. Pour cela nous avons suivi la technique de Lamelland (2). Cette méthode consiste essentiellement à épuiser la matière par de l'alcool bouillant dans le but de dissoudre les lipoïdes, puis à déterminer quantitativement les proportions des parties insaponifiables et saponifiables que la substance renferme.

Nous avons opéré sur 4 gr. de poudre.

A. EPUISEMENT PAR L'ALCOOL A 95° dans l'appareil de Kumagawa-Suto.

MM. Terroine (3) et Lobstein (4) ont prouvé que l'appareil de Kumagawa-Suto a des grands avantages sur celui de Soxhlet pour extraire les lipides des tissus d'animaux. En effet, la cartouche qui renferme la poudre à épuiser est placée directement dans les vapeurs mêmes du solvant et l'épuisement se fait donc à la température d'ébullition de celui-ci.

La poudre est placée dans la cartouche d'un appareil de Kumagawa-Suto et macérée dans l'alcool à 95° à froid pendant 12 heures; puis épuisée par l'alcool à 95° bouillant pendant 8 heures. La durée du chauffage est largement suffisante, car au bout de 4 heures, l'alcool siphonnant était décoloré et après 6 heures ne laissait aucune trace de résidu après évaporation. Les solutions alcooliques sont réunies, évaporées à sec sous pression réduite à une température ne dépassant pas 60°. L'extrait alcoolique est de couleur brun foncé.

---

(2) Lamelande M.-P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. biol. 1921, III, p. 163.

(3) Terroine F., Lesage G., Véhot G. et Wolff H. La détermination des matières grasses dans les produits végétaux. Annales des falsifications, 1927, p. 793.

(4) Lobstein E. Recherches biochimiques sur le Bacille tuberculeux. Thèse doctorat ès-Sc., Strasbourg 1922.

B. SAPONIFICATION DE L'EXTRAIT ALCOOLIQUE.

Ce dernier est traité dans le ballon extracteur par 25 cm^3 de potasse alcoolique 2N et chauffé pendant 2 heures au réfrigérant à reflux sur un bain de sable. On cesse de chauffer et on abaisse le titre alcoolique à 50° environ, en ajoutant 20 cm^3 d'eau distillée. On chauffe de nouveau jusqu'à clarification complète et on laisse refroidir.

C. EXTRACTION DE L'INSAPONIFIABLE.

On fait passer tout le liquide dans une ampoule à décantation et on rince le ballon rigoureusement avec de l'alcool à 50°. La solution est épuisée ensuite à trois reprises avec de l'éther de pétrole à P.E. inférieur à 70° en utilisant successivement: 100, 75 et 50 cm^3 du solvant. L'insaponifiable total passe dans l'éther de pétrole et les savons restent dans la solution hydroalcoolique. On laisse reposer après chaque agitation et on recueille les solutions éthérées dans une autre ampoule qu'on lave avec 100 cm^3 d'eau distillée. Pour cela on n'agite que très légèrement, on évite ainsi la formation d'émulsions. L'eau est séparée et ajoutée à la solution hydroalcoolique pour éviter toute perte d'acier gras. La solution éthérée est distillée à sec au B.M. dans le vide d'une température inférieure à 50° et on reprend le résidu avec l'éther de pétrole anhydre P.E. inférieur à 50°. On filtre sur amiante dans un petit vase taré pour séparer les impuretés, évapore dans le vide à 50° jusqu'à poids constant. Cet insaponifiable total est constitué par la cholestérine et les lipides insaponifiables.

D. DOSAGE DE LA CHOLESTERINE.

Nous avons employé pour le dosage de la cholestérine la méthode pondérale de Windaus, qui est basée sur la formation d'un complexe digitonine-cholestérine.

L'insaponifiable est dissous dans 10 cm^3 d'alcool absolu, on fait bouillir une minute et on ajoute 15 cm^3 d'une solution de digitonine à 1 % dans l'alcool absolu (5). On porte de nouveau

(5) 1) D'après Lamelande, la quantité de digitonine employée doit toujours être en excès. Les quantités que nous indiquons permettent de précipiter 45 mgr. au maximum.

2) L'alcool filtré et recueilli pour récupérer la digitonine.

à l'ébullition pendant une minute, on ajoute 2 cm^3 d'eau distillée, ce qui abaisse le titre d'alcool entre 95° et 90°. Le précipité blanc ainsi formé est recueilli sur un filtre taré, après un repos de 24 heures. On le lave plusieurs fois à l'alcool à 95°, puis avec de l'éther anhydre, on sèche à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant et on pèse. En multipliant par 0,2431, on obtient le poids de cholestérine contenu dans la prise d'essai.

E. EXTRACTION DES ACIDES GRAS ET DOSAGE DU SAPONIFIABLE.

Le liquide hydroalcoolique qui reste après la séparation de l'insaponifiable est acidulé par HCl étendu au 1/3 en présence de tournerol comme indicateur. Les acides gras ainsi libérés se trouvent dans une solution alcoolique dont le titre a été abaissé par l'acide et l'eau à 25° environ, passant facilement dans l'éther de pétrole à P.E. inférieur à 70°. On fait trois épuisements, successivement par 100 cm^3, 75 cm^3 et 50 cm^3 de solvant. Puis les extraits étherés sont lavés avec précaution à l'eau distillée pour enlever l'acide entraîné et évaporés à sec dans le vide. Le résidu est repris par l'éther de pétrole distillant au-dessous de 50°; on filtre dans un petit ballon taré, on évapore dans le vide. On sèche dans le vide à la température de 50° jusqu'à poids constant. On a ainsi le poids d'acides gras.

Caractères des acides gras.

On procède aux déterminations suivantes:

1° *Point de fusion* (déterminé au moyen d'un tube effilé): 39,8.

2° *Indice d'iode* (méthode de Hübl). Cet indice exprime le poids d'iode que l'on peut, dans des conditions déterminées, fixer sur 100 gr. de corps gras (en présence de bichlorure de mercure $HgCl^2$). La détermination se fait par rapport à un témoin qui ne contient pas de corps gras.

Indice d'iode trouvé: 62.

3° *Indice de saponification:* ou indice de Köttstorfer. C'est le poids évalué en milligrammes d'hydrate de potasse qui peut saturer les acides gras d'un gramme de corps gras. Une quantité connue de matière est pesée dans un ballon. On y ajoute parties

égales de solution alcoolique normale de potasse et d'alcool à 95°. Le ballon relié à un réfrigérant à reflux est chauffé au B.M. pendant une heure.

On laisse refroidir et on titre l'alcali demeuré libre au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique. Dans une autre fiole on fait un essai comparatif.

Par différence entre les deux résultats, on a le nombre de centimètres cubes de la solution normale de potasse nécessaire pour saturer les acides gras. En multipliant ce nombre par 0,056 qui représente la quantité de potasse existant dans un centimètre cube de solution de potasse normale, on obtient l'indice de saponification.

Indice de saponification trouvé: 190.

4° *Indice d'acidité.* — Il indique le nombre de milligrammes d'hydrate de potasse qui peut saturer les acides gras libres de 1 gramme de substance. Nous nous sommes servis d'une solution de potasse décinormale, d'une solution décinormale d'acide sulfurique et de phénolphtaléine comme indicateur.

Indice d'acidité trouvé: 24,3.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus pour les lipides sur 100 gr. de poudre de moelle osseuse:

Acides gras (saponifiables)	3,95 %
Insaponifiable	1,82 %
Extraits totaux	5,77 %
Cholestérine	0,632 %
Indice d'iode	62
Indice de saponification	190
Point de fusion des acides gras	39,8
Indice d'acidité	24,3

Recherches des protides.

Le terme protide désigne le groupe qui comprend les acides aminés naturels et les substances qui donnent par hydrolyse, un ou plusieurs de ces acides aminés. Ils sont les principes fondamentaux de toute cellule vivante, se rencontrent, plus ou moins différenciés, dans tous les tissus et dans presque tous les liquides de l'organisme.

I. RECHERCHES QUALITATIVES.

Nous nous sommes efforcés de déterminer les principaux groupes auxquels appartiennent les protides contenus dans la moelle osseuse, en nous basant sur leur sulubilité dans divers liquides d'extraction. Nous avons employé successivement l'eau distillée, une solution aqueuse de chlorure de sodium à 1 % et une solution aqueuse de potasse à 0,2 %. Dans l'eau pure passent les albumines, dans l'eau salée passent les globulines, dans l'eau alcaline passent les alcali-albumines, les nucléo-albumines et les glycoprotéides.

Nous avons opéré de la manière suivante: Nous avons fait macérer dans 25 cm^3 d'eau distillée 5 gr. de la poudre de moelle osseuse à la température ordinaire. Après un contact de 24 heures et de nombreuses agitations, nous avons essoré à la trompe et filtré ce macéré. Le résidu est remis en contact avec 25 cm^3 d'eau distillée pendant 12 heures. On agite à maintes reprises, puis on essore et filtre. Les deux macérés réunis forment l'extrait A. Les deux résidus sont traités chacun successivement par 25 cm^3 d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 10 %. Les extraits salés sont réunis et composent l'extrait B. Ces nouveaux résidus sont épuisés à deux reprises par 25 cm^3 d'une solution de potasse à 0,2 %. Après 12 heures de contact, agitations et filtrations, les filtrats sont réunis en extrait C.

Nous donnons ci-dessous les réactions que nous avons obtenues avec ces divers extraits.

1° *Extrait A* (eau pure).

Réactions de précipitation.

A. — *Par les réactifs généraux des alcaloïdes;*

1° Chlorure mercurique 1: 20: ——;

2° Ferrocyanure de potassium plus acide acétique: léger précipité vert;

3° Iodure de K iodé plus acide (Réactif de Bouchardat): précipité brun;

4° Acide picrique (Réactif d'Esbach): léger précipité;

5° Acide silicotungstique plus acide (Réactif de Bertrand): précipité;

6° Iodure de mercure et de potassium: précipité abondant.

B. — *Par les dissolvants neutres:* Alcool: louche.

C. — *Par les sels métalliques:*

1° Sulfate de cuivre: précipité;

2° Acétate de cuivre: léger précipité;

3° Acétate de plomb: fort précipité blanc.

D. — *Coagulation par les acides minéraux à froid:*

Acide azotique: précipité.

E. — *Coagulation par la chaleur en milieu acide:* Coagulation.

F. — *Réactions de coloration:*

1° Réaction xanthoprotéique (noyau aromatique): positive.

2° Réaction de Millon (tyrosine): positive;

3° Réaction du Biuret (albumoses, peptanes): positive;

4° Réaction du soufre (Cystine): négative.

2° *Extrait B* (eau salée).

Les diverses réactions données par l'extrait A ont été positives, sauf la réaction de Millon qui est empêchée par la présence du chlorure de sodium.

3° *Extrait C* (eau potassique).

L'extrait C peut contenir des alcali-albumines, des nucléo albumines et des glycoprotéides. Pour distinguer entre ces trois sortes de matières albuminoïdes on traite la solution alcaline par de l'acide acétique au dixième. Il se forme un précipité.

1° Une partie de ce précipité est délayée dans de l'eau distillée et chauffée à 120-130° à l'autoclave; on ajoute de l'alcali de façon à avoir une réaction très légèrement alcaline et l'on

fait réagir cette dernière sur la liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge orangé d'oxyde cuivreux est l'indice de la présence d'un *glycoprotéide*.

2° Une autre partie du précipité est desséchée à l'étuve, puis mélangée avec cinq fois son poids d'un mélange d'azotate et de carbonate de sodium. On calcine dans un creuset, on laisse refroidir, on traite le résidu par de l'acide azotique dilué employé en quantité suffisante pour dissoudre complètement le résidu. La solution azotique est enfin traitée par du molybdate d'ammonium; s'il se forme en chauffant légèrement un louche ou un précipité jaune, c'est qu'il y a dans la prise d'essai des nucléo-albumines.

3° Si le précipité ne donne ni la réaction des glyco-protéides, ni celle des nucléo-albumines, c'est que ce précipité est constitué par les alcali-albumines. La recherche des glycoprotéides a été négative, tandis que celle des nucléo-albumines et alcali-albumines a donné des résultats positifs.

En résumé, les réactions indiquées sur les extraits A, B et C nous permettent de conclure que la poudre de moelle osseuse renferme des *albumines* proprement dites, des *globulines*, des *alcali-albumines* et des *nucléo-albumines*.

Dosage d'Azote total

Microdosage d'Azote.

Nous avons dosé l'azote dans les solutions de sulfate d'ammoniaque, obtenues dans les trois méthodes différentes, dont la plus favorable est l'oxydation par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium. Nous avons utilisé l'appareil de Parnas et Wagner (1). L'ammoniaque est déplacé par de la soude à 30 % et est entraîné par un courant de vapeur d'eau. On le reçoit dans un excès connu d'acide sulfurique N/70 en présence de rouge de méthyle (acide para-diméthylazobenzène orthocarbonique comme indicateur en solution à 0 gr. 02 dans 100 cm³ d'alcool à 80°).

1 cm³ SO^4H^2 N/70 = 1 cm³ Na OH N/70 = 0 gr. 002 d'azote.

Nous avons fait quatre destructions pour chacune des trois méthodes et nous avons effectué sur chacune des solutions quatre microdosages.

(1) Nicloux M. La micro-analyse organique quantitative. Bull. Soc. Chim. de France, 1924 xxxv, p. 1041. Derrien E. et Fontès G. Chim. biol. médicale, Paris, Baillière et Fils, Edit., 1927.

RESULTATS

	Kjeldahlisation avec $SO^4H^2 + Cu$	Kjeldahlisation avec $SO^4H^2 + ClO^4H$	Kjeldahlisation avec $SO^4H^2 + Cu + K$
$SO^4H^2N/70$ neutralisé en cm^3 par 15 cm^3 de sulfate d'ammoniaque	15,324 cm^3	13,84 cm^3	15,82 cm^3
Quantité d'azote pour 100 gr. de substance totale	12 26 %	11,07 %	12 65 %

Dosage de l'ammoniaque

L'ammoniac est déplacé des solutions ammoniacales par une solution saturée de carbonate de lithium, qui est incapable de produire ce même gaz, aux dépens des autres composés azo-azotés.

En suivant la méthode de Yovanovitch (1) l'ammoniac est entraîné par un courant de vapeur d'eau produit dans le vide à la température de 40° à 50° et capté par une solution d'acide sulfurique N/70 en excès. Après avoir chauffé pour chasser l'acide carbonique, on titre l'excès d'acide sulfurique par la soude N/70 en se servant de rouge de méthyle comme indicateur. Nous avons opéré sur 10 cm^3 de la solution de sulfate d'ammoniaque.

100 gr. de poudre de moelle osseuse renferment 1 gr. 6 d'ammoniaque.

Dosage des matières albuminoïdes.

Nous nous sommes servis de la méthode de Voït (2) basée sur ce fait que les matières albuminoïdes sont insolubles dans l'alcool à 78 % saturé de sel à une concentration d'acide déterminée, 2 gr. de poudre de moelle osseuse sont placés dans une fiole jaugée de 250 cm^3; on ajoute 40 cm^3 d'eau distillée et 4 à 5 gouttes d'une solution de tropéoline 00. On verse de l'acide chlorhydrique goutte à goutte jusqu'à coloration rouge, puis 140 cm^3 d'alcool à 90°. On laisse reposer 6 heures et après on ajoute 5 cm^3 d'une solution de sulfate de soude à 20 %. On complète

(1) Yovanovitch E. Microdosage de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chim. biol. 1925, VII, p. 665.

(2) Voit E. Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffes. Zeitschrift für Biologie, 1926, LXXXV, p. 153.

le volume à 250 cm³ avec de l'alcool et on laisse reposer encore une heure en agitant de temps en temps.

On filtre; le précipité renferme des matières albuminoïdes; 50 cm³ du liquide sont soumis à la Kjeldahlisation, après avoir évaporé l'alcool dans le vide. On détruit les matières organiques avec un mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique et l'on dose l'azote soluble selon la méthode de Parnas et Wagner (3). Le résultat nous indique que l'azote non protéique contenu dans 100 gr. de poudre de moelle osseuse est de 2,92 %.

Cette méthode nous permet de calculer exactement les matières azotées.

Azote total — Azote soluble=Azote albuminoïde;
Azote albuminoïde×6,25=Matières albuminoïdes.

Voici les résultats obtenus:

Substances dosées	*Pour 100 gr. de moelle osseuse*
Azote total	12,65 %
Azote soluble	2,92 %
Azote albuminoïde	9,73 %
Matières albuminoïdes	60,81 %
Ammoniaque	1,6 %

Remarque. — On voit souvent dans les travaux de dosage des protides la teneur en matières albuminoïdes exprimée en multipliant l'azote total par 6,25. Le chiffre est toujours trop haut, parce que ce calcul de l'azote dans les matières albuminoïdes contient aussi de l'azote qui se trouve sous une forme non albuminoïde.

Recherche des Glucides.

Le terme Glucides désigne le groupe des substances qui comprend les sucres réducteurs non hydrolysables et les substances qui donnent par hydrolyse un ou plusieurs de ces sucres réducteurs. (Définition internationale).

Nous avons cherché les glucides dans notre poudre de moelle osseuse par les méthodes connues.

La recherche de sucres réducteurs nous a donné des résultats négatifs. Ensuite nous avons recherché les pentoses et les hexoses. Pour cela nous nous sommes servis des méthodes classique comme suit:

Réaction de Bertrand
Réaction de Molisch } Recherches de Pentosse et des hexoses

Réaction de Berg
Reactions de Tollens et Rossive } Recherche de sucres aldéhydiques

Réactions de Sélivanoff
Réactions de Rosenthaler } Recherche de sucres cétoniques

Formation d'osazone.

Nous n'avons eu que des résultats négatifs.

Recherche de l'inosite.

L'Inosite se rapproche des sucres proprement dits non seulement par sa formule brute mais encore par ses allures générales au cours des réactions physicochimiques et biochimiques. Il était intéressant de rechercher et d'identifier ce cyclohexaalcool, soit par la réaction de Scheerer (formation d'acide rhodizonique sous l'influence de l'acide azotique, et transformation en rhodizonate terreux de coloration caractéristique) soit par la réaction de Gallois (formation de rhodizonate de Mercure sous l'influence d'azotate de Mercure).

Nos essais ne nous ont donné que des résultats négatifs
Nous estimons donc que notre échantillon de moelle osseuse ne contient pas l'Inosite.

Recherche des Ferments.

(diastazes, enzymes)

C. Oppenheimer (1) définit les ferments d'une manière simple; une diastase c'est un catalyseur, c'est-à-dire une substance qui est capable d'accélérer et non de provoquer une réaction qui ne se serait produite que très lentement en dehors de sa présence. Les ferments agissent d'une manière spécifique, c'est-à-dire favorisent tel ou tel type de réaction chimique, ou même la transformation particulière d'un corps de structure bien déterminée. Nous savons aujourd'hui que l'analogie des ferments et des catalyseurs minéraux peut être poussée très loin et que le pouvoir fermentaire appartient à des substances minérales qui sont à l'état colloïdal. Y. Schaeffer (2) résume la nature chimique des ferments par les faits suivants: « Les ferments sont des corps à poids moléculaire élevé, à l'état colloïdal, diffusant difficilement et donnant avec l'eau des hydrosols; électrolytes amphotères, ils contiennent une fonction acide et une fonction basique et sont formés par l'association d'un support colloïdal et de sels minéraux ».

Les recherches poursuivies sur les ferments ont permis de faire rentrer dans le groupe des processus physico-chimiques, une série de phénomènes autrefois rattachés à une influence vitale. Elles ont ainsi exercé sur les conceptions biologiques une influence considérable et ont abouti à des résultats qui intéressent également le physiologiste et le médecin, le bactériologue, le botaniste, le chimiste et l'agriculteur.

Par suite du progrès des sciences physico-chimiques, l'étude des fermentations a pris un nouvel essor et toute une série de nouvelles théories ont été émises. L'action des ferments exercée sur les quatre grands groupes des composés organiques: matières grasses, glycides, lipides, protides est souvent reversible; par

(1) Oppenheimer C. — Die Fermente und ihre Wirkungen. 1913, p. 15.
(2) Schaeffer Y. Les ferments. Masson et Cie, 1929. Paris, p. 21.

conséquent toutes ces manifestations rentrent dans le groupe des phénomènes d'équilibre chimique.

Ainsi les études poursuivies sur les ferments établissent la complexité de leur action. En même temps, elles éclairent bien des points obscurs de la physiologie et nous préparent à mieux comprendre un grand nombre de faits pathologiques.

1. Diastases des Hyrates de Carbone.

1. *Amylase.*

Sous le nom d'amylase on désigne un ensemble de ferments qui agissent sur l'empois d'amidon en le dédoublant en dextrine et en maltose ou en glucose.

Technique. — Nous avons trituré 1 gr. de poudre de moelle osseuse avec 20 gr. d'une solution à 0,9 % de chlorure de sodium dans un mortier; puis nous avons abandonné le mélange pendant 12 heures, à la température du laboratoire (18-20°) en ajoutant 1 % de toluène. Ensuite nous l'avons centrifugé assez fortement avec la centrifugence électrique pendant 30 minutes. Comme pour l'extraction avec la solution physiologique, beaucoup de matières qui donnent la réaction du biuret passent dans l'eau, nous avons essayé de séparer les diastases de ces éléments par une précipitation avec une solution d'acide trichloracétique à 5 %. Nous ajoutions 2 cm^3 de cette solution à 10 cm^3 du filtrat provenant de la solution centrifugée, après une macération de 12 heures avec la solution physiologique et 1 cm^3 d'une solution de sulfate de magnésie à 0,5 % et 7 cm^3 d'eau distillée. Le filtrat était légèrement jaune et complètement limpide. 10 cm^3 de ce filtrat ont été mélangés avec 40 cm^3 d'une solution d'empois d'amidon à 0,5 % et 1 % de toluène. Nous avons fait agir ce mélange à l'étuve à 37° pendant 24 heures. En même temps, nous avons pratiqué des essais de contrôle, une fois en remplaçant l'empois d'amidon par l'eau distillée et une autre fois sans l'extrait de moelle osseuse, dans les mêmes conditions. Nous avons pu constater la formation de sucre tant par la liqueur cupro-alcaline, que par la formation d'osazone. Pour le dosage ainsi que dans tous les cas suivants, où nous ne remarquons autre chose, nous avons filtré 5 cm^3 et avons appliqué la méthode de réduction de G. Bertrand (3) au dosage de petites quantités de

(3) Bertrang G. Le dosage des sucres réducteurs. Bull. Sciences Pharm. 1907, p. 7.

sucre. L'oxyde cuivreux formé par l'action de la solution de sucre sur une solution alcaline d'oxyde de cuivre, est traité par une solution acide de sulfate ferrique. Le sel ferrique est transformé en sel ferreux et ce dernier est dosé par le permanganate de potassium.

Nous nous sommes servis du reste pour la recherche des osazones. Pour 10 cm³ du filtrat de la solution venant de l'étuve à 37° nous ajoutions 0 gr. 25 de chlorhydrate de phénylhydrazine et 0 gr. 50 d'acétate de sodium. Nous chauffions une heure juste au bain-marie bouillant. La formation d'osazone nous donnait après refroidissement un image claire et même quantitativement appréciable du pouvoir amylasique.

Tous les essais ont été exécutés en série. Nous donnons le résultat pour chaque essai sans faire le calcul pour la quantité de poudre de moelle osseuse mise en oeuvre.

Compositions des mélanges:

Flacons A: Solution d'empois d'amidon à 5 % — 40 cm³, extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, Toluène 0,5 cm³.

Flacon B: Eau distillée — 40 cm³, extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Flacon C: Solution d'empois d'amidon — 40 cm³, eau distillée — 10 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Résultat:	Oxyde cuivreux en grammes	Formation d'osazone.
Flacon A:	0,0023	abondante
Flacon B:	0,0017	rien
Flacon C:	0,002	rien

Ces résultats nous démontrent que la poudre de moelle osseuse contient de l'amylase.

2. *Glycogénase.*

Musculus et von Mehring (4) ont trouvé que les diastazes agissent de la même façon sur l'amidon et le glycogène. On pouvait donc s'attendre à un résultat positif dans la recherche de la glycogénase. Nous avons mené les essais de la même façon

(4) Musculus et von Mehring. Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogen durch Diastas, Pancreas, Speichel und Leberferment. Zeitschr. für physiol. Chemie, 1879. II, p. 403.

que pour l'amylase en remplaçant l'amidon par le glycogène et nous nous sommes rendu compte que la poudre de moelle osseuse contient de la glycogénase, c'est-à-dire peut hydrolyser le glycogène. Voici nos résultats:

Composition des mélanges:

Flacon A: Glycogène — 0 gr. 2, extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, eau distillée — 40 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Flacon B: Extrai de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, eau distillée — 40 cm³, Toluène 0,5 cm³.

Flacon C: Glycogène — 0 gr. 2, eau distillée — 50 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Résultats:	Cu^2O en grammes	Formation d'osazone.
Flacon A:	0,0052	abondante
Flacon B:	0,0034	rien
Flacon C:	0,012	rien

3. *Inulase.*

Elle a le pouvoir de transformer l'inuline en d-fructose. L'inuline appartient aux hydrates de carbone difficilement attaquables comme l'ont démontré les recherches de Richaud (5), Portier et Bierry (6). Nous avons utilisé la même technique que pour l'amylase, mais l'inuline étant très peu soluble, est difficilement attaquable, nous avons prolongé le temps d'action à l'étuve à cinq jours. Nous n'avons pas réussi à obtenir d'osazones cependant nous avons pu constater la présence de traces d'inulase.

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, Inuline — 0 gr. 5, eau distillée — 40 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Flacon B: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm², eau distillée — 40 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Flacon C: Inuline — 0 gr. 5, eau distillée — 40 cm², Toluène — 0,5 cm³.

Résultats:	Cu^2O en grammes
Flacon A:	0,0323
Flacon B:	0,0028
Flacon C:	0,0036

(5) Richaud A. Sur quelques points relatifs à l'histoire physiologique de l'inuline chez les animaux. C. R. Soc. Biol. 1900, VII, p. 416.

(6) Portier et Bierry. Recherches sur l'influence de l'alimentation sur les sécrétions diastasiques. C. R. Soc. Biol. LIII, p. 810.

Ces chiffres nous démontrent que le pouvoir inulasique de la poudre de moelle osseuse est faible.

4. *Invertase.*

L'invertase dédouble le saccharose en d-glucose qui dévie à droite la lumière polarisée et en d-fructose avec une déviation polarimétrique à gauche. Comme cette dernière déviation est plus forte, le mélange est lévogyre; c'est le sucre interverti.

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, Saccharose — 0 gr. 25, eau distillée — 40 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Flacon B: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, eau distillée — 40 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Flacon C: Saccharose 0 gr. 25, eau distillée — 50 cm³, Toluène — 0,5 cm³.

Résultats:	Oxyde cuivreux en grammes	Formation d'osazone
Flacon A:	0,0208	abondante
Flacon B.:	0,0028	rien
Flacon C:	0,0038	rien

Nous pouvons confirmer la présence d'Invertase dans notre poudre de moelle osseuse.

5. *Lactase.*

C'est aussi un ferment spécifique qui agit seulement sur le lactose en le dissociant en d-glucose et en d-galactose.

Nous avons recherché la lactase en faisant digérer la poudre de moelle osseuse sur une solution de sucre de lait à 1 % à la température de 37°. Nous n'avons pas pu constater d'action, même en prolongeant nos essais pendant cinq jours.

6. *Glycolase.*

Cette enzyme peut décomposer les dextroses et les levuloses. Il nous semblait intéressant de faire des recherches à ce point de vue. Nous avons eu des résultats positifs, en utilisant l'action d'oxydants; car d'après Löb (7) c'est une condition nécessaire

(7) Löb W. Beiträge zur Glycolise. Biochem. Zeitschr., xxix, 1910, p. 316.

à la glycolyse normale. Nos essais ont été menés avec de l'eau oxygénée. Nous en avons ajouté en quantité telle, qu'il en reste encore en excès bien qu'elle se décompose en partie, par le catalase qui existe dans notre poudre de moelle ossuse. Pour éviter l'acidification du milieu résultant de produits d'oxydation de glucose, nous avons ajouté au commencement du carbonate de calcium précipité.

Composition des mélanges.

(laissés à l'étuve pendant 48 heures à 37°).

Flacon A: Poudre de moelle osseuse — 1 gr., Eau oxygénée à 3 % — 25 cm³, solution de glucose à 2 % — 25 cm³, Carbonate de calcium — 0 gr. 5, Toluène — 1 cm³.

Flacon B: Poudre de moelle osseuse — 1 gr., Solution de glucose à 2 % — 25 cm³, Carbonate de calcium — 0 gr. 5, Toluène — 1 cm³.

Flacon C: Eau oxygénée à 3 % — 25 cm³, solution de glucose à 2 % — 25 cm³, Carbonate de calcium — 1 gr.

Résultats:	Oxyde cuivreux en grammes.
Flacon A:	0,049
Flacon B:	0,0017
Flacon C:	0,211

7. *Salicase.*

Ferment qui hydrolyse la salicine en glucose et en saligenine. Nous avons pu confirmer sa présence dans notre poudre de moelle osseuse. Dans le flacon A, nous avons mélangé: 1 gr. de poudre avec 50 cm³ d'eau distillée, puis 1 gr. de salicine et 0,5 cm³ de toluène. Dans le flacon B, nous avons mis le même mélange mais sans ajouter de salicine. Dans le flacon C, nous avons mis 1 gr. de salicine dans 50 cm³ d'eau distillée; le tout a été porté à l'étuve à 37° pendant 48 heures. Tous les trois filtrats ayant été bouillis avec de la liqueur de Fehling, seul le filtrat du flacon A, donne un abondant précipité d'oxydule de cuivre; les deux autres filtrats nous donnaient des résultats négatifs.

Nous pouvons donc conclure à la présence de la salicase.

8. *Helicase.*

Ce ferment hydrolyse l'hélicine en glucose et aldéhyde salicylique. Nous avons pu confirmer sa présence dans notre poudre

de moelle osseuse; nos essais ont été mené de la même façon que pour la salicase, en remplaçant la salicine par l'hélicine. Seul le flacon qui contenait la poudre et l'hélicine donnait une réaction positive par la réaction de Fehling. La poudre sans l'hélicine, et l'hélicine seule ont conduit à des résultats négatifs. *Cela permet de conclure à la présence de l'hélicase.*

9. *Arbutase.*

Ce ferment dédouble l'arbutine en glucose et hydroquinone. Nous avons pu confirmer sa présence dans notre poudre de moelle osseuse. Nos essais ont été menés de la même façon que pour la salicase en remplaçant la salicine par l'arbutine. Seulement le flacon qui contenait la poudre et l'arbutine donnait le précipité d'oxydule de cuivre par la liqueur de Fehling, tandis que la poudre sans arbutine, et l'arbutine seule donnaient des résultats négatifs. *Cela permet de conclure à la présence de l'arbutase.*

10. *Nucléase.*

Ce ferment libère le d-ribose des acides nucléiques. Nous avons essayé de rechercher l'acide phosphorique ainsi que les bases puriques. Nous avons suivi en général la méthode indiquée par Kan Kato (8). 3 gr. de poudre de moelle osseuse ont été agités avec 60 cm^3 de solution physiologique pendant une heure sur la machine à agiter. Après avoir centrifugé le mélange, nous l'avons filtré; 10 cm^3 de cet extrait ont été mélangés avec 10 cm^3 d'une solution à 2 % de nucléate de sodium et 0,2 cm^3 de toluène. D'autre part, nous avons mélangé 10 cm^3 de l'extrait de moelle osseuse, avons porté à l'ébullition pour détruire le ferment soupçonné, avec la même quantité de nucléinate de sodium. Nous avons porté les deux essais à l'étuve à 37° pendant 48 heures. Après la digestion, les mélanges ont été bouillis, acidulés et défé qués dans une série d'essais par le fer dialysé, dans une autre par l'acide trichloracétique à 5 %. Les précipités ont été soigneusement lavés et nous avons précipité l'acide phosphorique par l'ammoniaque et la mixture magnésienne. Le précipité a été abandonné 24 heures, puis filtré, lavé et séché. Ensuite nous l'avons calciné dans un creuset de platine et pesé à l'état de $P^2O^7Mg^2$.

(8) Kan Kato. Ueber Fermente in Bambusschösslingen. Zeitschr. für phys. Chemie, 1911, LXXV, p. 456.

La quantité de phospore ainsi formé était presque la même partout.

Aussi dans la recherche des bases puriques nous avons eu des résultats négatifs. Nous avons opéré pour le digestat de la même façon que pour la détermination du phosphore, mais nous nous sommes servis de quantités doubles. Après avoir déféqué le digestat par l'acide trichloracétique, nous avons précipité l'acide nucléinique par l'acide chlorhydrique. Nous avons déterminé dans les deux filtrats la quantité des bases puriques. Nous avons trouvé dans les deux essais à peu près la même quantité d'azote. Rien ne nous autorise donc à conclure à la *présence* de *nucléase* dans la poudre de *moelle osseuse.*

II. LES FERMENTS DES LIPIDES.

Par suite des notions récemment acquises sur les lipides le cadre des lipases proprement dites s'est considérablement élargi (9). Il comprend actuellement en outre des lipases, les ferments qui dissocient les éthers gras supérieurs et les éthers de la cholestérine, enfin il convient d'y ajouter les ferments mal connus qui dissocient les étehrs de la lécithine et des autres phosphatides, la phosphatase, la chlorophyllase, la tannase et la sulfatase. Nous nous sommes limités à la recherche de la lipase, de la lécithase et de la phosphatase.

1. *Lipase.*

C'est un ferment soluble qui hydrolyse les éthers de la glycérine et les dédouble en glycérine et acides gras.

Nous avons fait une série d'essais qui permettait de confirmer la présence de lipase dans la poudre de moelle osseuse. Pour cela nous nous sommes servis d'une solution aqueuse de monobutyrine à 1 %. Nous avons dosé l'acide butyrique mis en liberté selon la méthode de Henriot et Camus (10).

Comme pour les recherches précédentes nous avons préparé un extrait de la poudre de moelle osseuse en faisant macérer notre produit avec de l'eau distillée, de préférence à la solution physiologique de chlorure de sodium. Après une centrifugation

(9) Schaeffer Y. Les ferments, 1929, Masson et Cie, Edit., Paris.

(10) Henriot et Camus. Sur le dosage de la lipase. C. R. Acad. Sc. 1879, CXXIV, p. 235.

d'une demi-heure, nous avons filtré. Selon les indications, nous avons laissé digérer pendant 24 heures à 37°.

Voici les résultats en cm³ de soude décinormale en prenant la phénolphtaléine comme indicateur.

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, monobutyrine à 1 % — 10 cm³, Toluène — 0,25 cm³.

Flacon B: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, eau distillée — 10 cm³, Toluène — 0,25 cm³.

Flacon C: Monobutyrine à 1 % — 10 cm³, eau distillée — 10 cm³, Toluène — 0,25 cm³ (titré tout de suite après avoir mélangé).

Flacon D: Monobutyrine à 1 % — 10 cm³, eau distillée — 10 cm³, Toluène — 0,25 cm³.

Résultats:	*Soude décinormale en cm³*
Flacon A:	2,3
Flacon B:	1,1
Flacon C:	0,25
Flacon D:	0,30

2. *Lécithase.*

Il nous semblait intéressant de savoir si notre poudre de moelle osseuse contient ce ferment dédoublant la lécithine. Pour sa recherche nous avons préparé par trituration lente de 2 gr. lécithine pure avec 200 gr. d'eau chaude, une émulsion homogène et stable. Ensuite, nous l'avons divisée en quantités égales dans différents petits Erlenmeyer; nous avons laissé également digérer l'émulsion avec et sans eau distillée.

Nous avons titré l'acide formé avec la soude décinormale en présence de phénolphtaléine comme indicateur, après une digestion à l'étuve à 37° pendant 24 heures. Voici les résultats qui ont été positifs:

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, émulsion de lécithine — 5 cm³, Toluène — 0,2 cm³.

Flacon B: Extrait de moelle osseuse 1/20 — 10 cm³, eau distillée — 5 cm³, Toluène — 0,2 cm³.

Flacon C: Emulsion de lécithine — 5 cm³ (titré de suite).

Flacon D: Emulsion de lécithine — 5 cm³ (après digestion 24 heures).

Flacon E: Emulsion de lécithine — 5 cm³, eau distillée — 70 cm³, Toluène — 02 cm³.

Résultats:	*Soude décinormale en cm³*
Flacon A:	2,20
Flacon B:	1,00
Flacon C:	0,30
Flacon D:	0,35
Flacon E:	0,35

3. *Phosphatase.*

Ce ferment libère les alcools et l'acide phosphorique des phosphatides. Il nous semblait intéressant de rechercher ce ferment dans la poudre de moelle osseuse. L'extrait de moelle osseuse a été préparé de la même façon que pour la nucléase. Nous nous sommes servis de glycéro-phosphate de sodium, sur lequel nous voulions constater une action fermentaire. Le pouvoir d'hydrolyser le phosphore a été déterminé de la façon suivante: 10 cm³ des filtrats des mélanges essayés ont été traités par 5 cm³ d'une mixture ammoniaco-magnésienne. Après un repos de 24 heures le précipité est lavé, séché, calciné dans un creuset en platine et pesé à l'état de pyrophosphate de magnésium ($P^2O^7Mg^2$). Les résultats ont été négatifs.

III. LES FERMENTS DES PROTIDES ET LEURS DERIVES.

D'une façon générale, les ferments des protides scindent les molécules entre l'azote et le carbone, alors que les lipases détachent des molécules les restes oxygénés.

1. *Pepsine.*

Ce ferment protéolytique dédouble les albuminoïdes par fixation d'eau. L'action protéolytique de la pepsine ne se produit qu'en milieu acide, l'acide d'élection étant l'acide chlorhydrique. Le dédoublement pepsique se ferait en plusieurs phases. La première phase conduit à la formation de la syntonine ou parapeptone. Elle résulte de l'action de l'acide seul et non point de celle de la pepsine. Dans la seconde phase, la pepsine agissant sur la syntonine, fournit des albumoses ou propep-

tones. Dans une troisième phase, l'albumose est dédoublé en peptones. Contrairement à ce qu'on croyait autrefois, la dislocation de l'albumine sous l'influence de la pepsine ne s'arrête pas aux peptones. Quand l'action de ce ferment protéolytique est suffisamment prolongé et énergique, on peut aboutir aux polypeptides.

2. Trypsine.

La trypsine est un ferment protéolytique qui agit quelle que soit la réaction du milieu, mais de préférence en milieu faiblement alcalin (entre 0,2 et 0,3 % de carbonate de soude avec optimum vers 1 %).

Elle agit avec beaucoup plus d'intensité sur les matières albuminoïdes, après les avoir transformées en peptone elle dédouble les polypeptides qui sont contenus dans ces peptones en produits abiuretiques, et en dernière analyse à des acides aminés.

Dosage des acides aminés libérés.

Les acides aminés matériaux élémentaires de la moiécule protéique apparaissent à la fin du clivage de ces molécules. Ils apparaissent surtout après l'action de la trypsine.

Méthode de Soerensen.

On prélève 10 cm^3 du digesté, on ajoute 10 cm^3 d'eau, puis 10 gouttes de solution de phénolphtaléïne, enfin de la soude à neutralisation. On ajoute alors 25 cm^3 de formol commercial exactement neutralisé. La coloration rose disparaît par suite de la libération des radicaux acides. On verse ensuite de la soude décinormale jusqu'à réapparition de la teinte rose. On note le volume N de soude versée. Les résultats s'expriment généralement en cm^3 de soude décinormale employé.

Technique.

On détermine le pouvoir digestif de ces deux ferments sur de la fibrine en milieu acide pour la pepsine, en milieu légèrement alcalin pour la trypsine.

Pour la pepsine.

On charge trois premiers flacons avec les mélanges suivants:
Flacon A: poudre de moelle osseuse 0,6 gr. — acide chlor-

hydrique env. 3 ‰ 30 cm³, fibrine 1 gr.

Flacon B: fibrine 1 gr., pepsine 0,2 gr. — acide chlorhydrique environ 3 ‰ 30 cm³..

Flacon C: fibrine 1 gr., acide chlorhydrique 3 ‰ 30 cm³.

Avant d'ajouter le pepsine dans l'un, et la poudre de moelle osseuse dans l'autre flacon, on le met au préalable à l'étuve à 50° pendant 1 heure environ en agitant de temps en temps, afin que la fibrine se gonfle.

Pour la trypsine.

Flacon D: fibrine 1 gr., carbonate de soude 1 ‰ 30 cm³, poudre de moelle osseuse 0,6 gr.

Flacon E: fibrine 1 gr., carbonate de soude 1 ‰ 30 cm³, pencréatine 0,2 gr.

Flacon F: fibrine 1 gr., carbonate de soude à 1 ‰ 30 cm³.

On porte le tout à l'étuve à 50° pendant 36 heures, en ayant soin d'agiter de temps en temps. Ce temps écoulé on filtre; sur les filtrats on pratique l'essai de la touche azotique et le dosage des acides aminés d'après la méthode de Soerensen.

Les résultats positifs de nos essais sont consignés dans le tableau ci-dessous:

	Composition des mélanges		liquéfaction de la fibrine	touche azotique	NaOH N/10 pour 10 cm³ de digesté (méthode Sœrensen
A	Poudré de mœlle osseuse HCl env. 3‰ Fibrine	0,gr6 30cm 1 gr	+	—	2,05
B	Fibrine Pepsine HCl env. 3‰	1 gr 0,gr2 30cm³	+	—	2,85
C	Fibrine HCl env. 3‰	1 gr 30cm³	—	+	1,40
D	Fibrine CO^3Na^2 1‰ Poudre de mœlle osseuse	1 gr 3cm³ 0gr6	+	—	4,50
E	Fibrine CO^3Na^2 1‰ Pancréatine	1 gr 30cm² 0gr2	+	—	17,25
F	Fibrine CO^3Na^2 1‰	1 gr 30cm³	—	+	1,15

3. *Erepsine.*

Ce ferment attaque les groupements CO-NH et donne comme produits de dédoublement des Polypeptides et finalement des acides aminés.

Pour la recherche de l'erepsine dans notre poudre de moelle osseuse, nous nous sommes servis de la méthode de Löb et Higuchi (11).

Nous avons agité 3 gr. de poudre de moelle osseuse dans 300 cm³ d'eau distillée pendant 2 heures à la machine à agiter. Après un repos de 12 heures et filtration, nous avons ajouté goutte à goutte au filtrat une solution d'acétate d'uranium à 1 % aussi longtemps qu'un précipité se formait.

Ce dernier a été recueilli sur un filtre, lavé et dissous par addition lente d'une solution de carbonate de soude à 0,2 %.

Le liquide a été soumis à une deuxième filtration après un repos de 12 heures. De la solution limpide nous avons prélevé 50 cm³ et les avons mélangés avec 1 cm³ d'une solution de peptone de Wite à 1 %.

Ce mélange a été divisé en cinq tubes à essais. Nous avons partagé également une autre prise d'essai de 50 cm³ de la solution de carbonate de sodium en 5 tubes, mais sans addition de peptone.

Le tout a été placé à l'étuve à 38°. A intervalles déterminés, nous avons retiré un tube avec peptone, auquel nous avons ajouté de la soude concentrée en excès et de la solution de sulfate de cuivre très diluée (réaction de Biuret).

Nous avons ajouté aux tubes à essais qui ne contenait pas de peptone de Wite, 0,2 cm³ de cette solution à 1 %, et avons pratiqué de la même façon la réaction de Biuret.

Cette comparaison nous permettait de constater la différence d'intensité de la réaction de Biuret, dans la solution essayée et dans la solution témoin, qui contenait encore toute la quantité de peptone dans le même état.

Nous avons pu ainsi constater nettement la présence de l'érepsine dans la poudre de moelle osseuse.

---

(11) Löb W. et Higuelin S. Zur Kenntnis der Placentaenzyme. Biochem. Zeitschr. 1908, XXII, p. 316.

4. *Uréase.*

Le catalyseur intervenant dans la décomposition de l'urée a été découvert en 1874 par Musculus. Ce savant, en effet, a constaté que l'urine ammoniacale filtrée et évaporée dans le vide, est capable, si on l'ajoute à de l'urée fraîche d'en provoquer la fermentation; on obtient, du reste un résultat analogue avec le produit obtenu en précipitant par l'alcool l'urine altérée, épaisse et filante. Musculus établit ainsi que la production de l'ammoniaque n'est pas due exclusivement au ferment figuré, et il admet qu'elle résulte de l'action d'une substance spéciale, de nature diastasique, dont le siège de sécrétion se trouverait, d'après lui, dans la vessie. On le voit, tout en constatant la présence de l'enzyme, Musculus n'a pas saisi la relation entre le ferment figuré et la substance active qu'il venait de retirer. C'est Miquel qui a démontré définitivement que le ferment agissant sur l'urée est bien sécrétée par un microorganisme. Ce catalyseur spécial a été décrit d'abord sous le nom d'urase, puis sous celui de l'Uréase.

Il était intéressant de le rechercher dans notre poudre de moelle osseuse. Pour cela nous avons chargé deux flacons avec les mélanges suivants:

Flacon A: Poudre de moelle osseuse, 1,5 gr., urée 0,25 gr., eau distillée 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Flacon B: Poudre de moelle osseuse 1,5 gr., eau distillée 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Après un séjour à l'étuve de 2 jours à 5 jours, nous avons prélevé une partie du liquide. Sur 10 cm^3 de ce filtrat nous avons pratiqué le dosage d'ammoniaque dans l'appareil de Yovanovitz en défecquant au préalable par le fer colloïdal. Voici nos résultats:

	$SO^4H^2N/70$ en Cm^3 nécessaire pour la neutralisation de l'ammoniaque	
	après 2 jours	après 5 jours
Flacon A ..	1,1	1,4
Flacon B ..	0,55	0,60

D'après les résultats obtenus en ammoniaque *nous pouvons conclure à la présence d'un ferment, transformant l'urée en carbonate d'ammoniaque dans notre poudre de moelle osseuse.*

5. *Désamidase.*

Ferment dissociant l'asparagine, le glycocolle et autres acides aminés, en produisant de l'ammoniaque.

Nous avons cherché ce ferment dans notre poudre de moelle osseuse; nous avons disposé les essais de la même façon que pour l'uréase en remplaçant l'urée par le glycocolle.

Composition des mélanges:

Flacon A: Poudre de moelle osseuse 1,5 gr., glycocolle 0,25, eau distillée 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Flacon B: Poudre de moelle osseuse 1,5 gr., eau distillée, 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Résultats:

	$SO^4H^2N/70$ en Cm^3 pour la neutralisation de l'ammoniaque	
	après 3 jours	après 5 jours
Flacon A ..	0,40	0,50
Flacon B ..	0,60	0,65

Rien ne nous autorise donc à conclure à la présence d'une désamidase.

6. *Hippuricase.*

Ce ferment découvert par Schmiedeberg (12), qui le nomma histozyme, transforme l'acide hippurique en glycocolle et en acide benzoïque.

Pour la rechercher nous avons suivi la méthode de K. Maeda (13): en dissolvant 0,4 gr. d'hippurate de sodium dans 20 cm^3 d'eau distillée, nous y avons ajouté 1 gr. de poudre de moelle osseuse en agitant fortement. Après avoir additionné de 2 à 3 cm^3 de toluène nous avons mis le mélange pendant 3 jours à l'étuve à 38°. Ce temps passé, nous avons fait bouillir un ins-

(12) Schmiedeberg. Ueber Oxyd. und Synth. im Tierkörper Arch. für experim. Pathol. 1881, xiv, 288, 379.

(13) Maeda K. Fermente in der Placenta Bioch. Zeitschr. 1923, 143, p. 361.

tant, refroidi et déféqué au fer colloïdal. Le filtrat limpide a été légèrement acidulé par l'acide chlorhydrique et épuisé quelques fois dans une ampoule à décantation avec de l'éther de pétrole — (P. E. 60°). Les solutions réunies ont été filtrées et l'éther de pétrole évaporé dans le vide. Il s'est formé au fond de ballon des aiguilles blanches facilement reconnaissables au microscope; elles ont l'aspect de l'acide benzoïque. Le point de fusion démontre qu'il s'agit bien de ce dernier (120-121°). D'un autre côté nous avons fait digérer 0,4 gr. d'hippurate de sodium avec de l'eau et du toluène, sans poudre de moelle osseuse puis nous avons suivi exactement le même procédé indiqué plus haut. Le résultat a été négatif. *Cela nous prouve la présence de l'hippuricase dans la poudre de moelle osseuse.*

IV. OXYDASES, PEROXYDASES ET CATALASES.

C. Oppenheimer a dit des oxydases qu'elles constituaient l'un des chapitres les plus délicats et les plus difficiles, de la chimie des ferments.

Les oxydases, oxydent certains phénols en donnant des quinones. Ces oxydases joueraient un rôle important dans la formation des pigments animaux à partir de diphénols. Remarquons que les éléments minéraux: fer (Warburg), manganèse (G. Bertrand), cuivre, semblent jouer un rôle fondamental dans ces oxydations, vraisemblablement par la formation des complexes intermédiaires (péroxydes métalliques) absorbant et restituant l'oxygène.

Ces éléments minéraux interviendraient donc d'une manière analogue à celle de l'hémoglobine et de la chlorophylle, et Y. Schaeffer se demande s'il y a lieu de classer ces oxydases parmi les ferments. Plus douteuses encore sont les péroxydases, décomposant le péroxyde (H^2O^2 en particulier) en libérant l'oxygène atomique actif, capable d'être ensuite fixée par des corps aromatiques (accepteurs); dont l'oxydation indirecte se manifeste par un changement de coloration.

La catalase qui décompose le péroxyde d'hydrogène H^2O^2 en H^2O et O moléculaire fonctionnant vraisemblablement comme accepteur d'H.

Schaeffer prétend qu'il s'agirait dans ce cas d'une réaction de défense de l'organisme ayant pour but la destruction des péroxydes toxiques en excès.

Mais, d'après Wieland, les oxydations biologiques résulteraient indirectement de l'activation de l'hydrogène sous l'influence de l'action de certains ferments, les déshydrases ou réductases (Abelous et Gérard).

Recherche des oxydases (aéroxydases).

Nous avons fait nos essais avec un extrait de poudre de moelle osseuse en faisant macérer pendant plusieurs heures 5 gr. de poudre dans 20 fois son poids d'eau. Après de fréquentes agitations nous avons filtré, et comme la coloration était assez foncée, un changement de couleur était difficile à apprécier Pour cette raison, nous avons préparé un extrait plus clair et limpide en déféquant une partie de filtrat de la macération avec du fer colloïdal.

Il est très probable que les oxydases peuvent être modifiées; sinon éliminées en grande partie par suite de cette opération. Tous nos essais ont été menés avec ces deux extraits.

Nous indiquons les résultats obtenus dans le tableau suivant:

N°	Composition du mélange	Changement de couleur
	a) **Pyrogallase**	Les deux changeaient de couleur à peu près en même temps.
1	Extrait de moelle osseuse 1 : 20 10 ccm	
	Pyrogallol 1 % 1 ccm	
2	Eau distillée 10 ccm	
	Pyrogallol 1 % 1 ccm	
	b) **Adrenalase**	
1	Extrait de moelle osseuse 1 : 20 10 ccm	
	Suprarenium hydrochloricum 1 : 1000 10 gouttes	
2	Eau distillée 10 ccm	dto
	Suprarenium hydrochloricum 1 : 1000 10 gouttes	
	c) **Tyrosinase**	
1	Extrait de moelle osseuse 1 : 20 10 ccm	
	Tyrosine 1 ccm	dto
2	Eau distillée 10 ccm	
	Tyrosine 1 cm^3	
	d) **Dioxyphénylalaninase**	
1	Extrait de moelle osseuse 1 : 20 10 ccm	
	Dioxyphénilalanine 1 % 1 ccm	dto
2	Eau distillé 10 ccm	
	Tyrosine 1 ccm	

Sur une autre partie d'extrait filtré non déféqué au fer colloïdal, nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution aqueuses de gaïacol à 1 %;

En comparant avec la même prise d'essai d'extrait sans gaïacol aucun changement de couleur n'a eu lieu; donc *absence de l'oxydase.* Mais aussitôt que nous avons ajouté de l'eau oxygénée, une coloration rouge grenate intense apparût. Dans l'essai sans gaïacol la coloration n'apparaît pas et on voit une mousse abondante, indiquant la décomposition énergique de l'eau oxygénée. *On peut donc cinclure à la présence de péroxydase et d'une catalase.*

La décomposition de l'eau oxygénée se produit plus fortement directement avec la poudre de moelle osseuse.

Hydrolase (Aldéhydase).

Un ferment qui a été appelé Aldéhydase et qu'on a fait agir tout d'abord sur l'aldéhyde salicylique, a le pouvoir de transformer cette substance en acide salicylique et alcool salicylique. Il a donc le pouvoir d'oxyder et de réduire en même temps.

Nous avons fait digérer un gramme de poudre de moelle osseuse avec 10 cm^3 d'eau distillée, en ajoutant 1 cm^3 d'aldéhyde salicylique, puis quelques gouttes de toluène, pendant 48 h. à 37°. Après ce temps, le mélange a été acidulé, légèrement bouilli et filtré. Le filtrat est concentré au bain-marie à la consistance de sirop. On reprend par l'alcool à 96° et l'extrait est filtré. On évapore l'alcool, on reprend le résidu par l'eau et on épuise par l'éther. L'éther évaporée, on dissout le résidu dans l'eau et on caractérise l'acide salicylique par le perchlorure de fer. La réaction a été très légèrement positive.

La salicylase se trouve donc en très petites quantités dans la poudre de moelle osseuse.

FERMENTS REDUCTEURS.

Tous les tissus renferment des ferments réducteurs aisément décelés par la méthode d'Ehrlich: le bleu d'alizarin est facilement réduit à l'état d'un composé incolore et redevient bleu par oxydation.

De même, le bleu de méthylène donne par réduction un leucodérivé.

Nitrase.

C'est un ferment soluble réducteur qui réduit les nitrates en nitrites.

Il était intéressant de rechercher le même ferment dans la poudre de moelle osseuse.

Nous avons fait une macération de 2 gr. de poudre de moelle osseuse dans 20 cm³ d'eau distillée qu'on additionne de 0,5 gr. de nitrate de potassium pur et du chloroforme pour éviter l'intervention de microorganismes, on laisse séjourner à l'étuve à 40-42° pendant 24 heures. Après ce temps écoulé nous avons pu constater que:

1) Le filtrat de cette macération nitraté présente les réactions caractéristiques des nitrites (Réaction de Tromsdorff en liqueur acétique, de Griess à la métaphenylene-diamine, de Denigès à la resorcine et à l'acide sulfurique.

2) Si on ajoute du nitrate de potassium à la macération de poudre de moelle osseuse préalablement bouillie, il n'y a pas formation de nitrites.

3) Ajoutons qu'on ne trouve pas les réactions d'acide azoteux dans les macérations, non nitratés de la poudre de moelle osseuse.

De ces faits nous pouvons conclure à la présence d'une nitrase dans notre poudre de moelle osseuse.

Conclusion.

En définitive nous avons mis en évidence la présence dans la poudre de moelle osseuse étudiée: une *amylase,* une *inulase,* une *glycogenase,* une *sucrase,* une *nucléase,* une *salicase,* une *lipase,* une *phosphotase,* une *salolase,* une *péptase,* une *trypiase,* une *éréptase,* une *hippuricase,* une *péroxydase,* une *catalase,* une *nitrase.*

Par contre, nous *n'avons pas mis en évidence:* la *lactase* et *l'oxydase.*

Enfin nous sommes les premiers à avoir reconnu l'existence d'une *glycolase,* d'une *arbutase,* d'une *salicase,* d'une *hélicase,* d'une *lécithase,* d'une *uréase,* d'une *désamidase,* d'une *aldéhydase.*

Conclusions générales.

L'ensemble de nos recherches nous conduit aux conclusions suivantes:

Dans la moelle osseuse de même que dans toutes les cellules vivantes on constate la présence de matières minérales, de lipides, de ferments, de protides, de phosphatides, etc... Mais ces substances s'y trouvent dans des proportions un peu différentes de celles d'autres organes.

Résumons nos résultats obtenus:

Matières minérales:

En outre des métaux comme le Sodium, Potassium, Calcium, Magnésium et Fer, dont la présence dans la poudre de moelle osseuse avait été signalé avant nous, nous sommes les premiers à avoir recherché et dosé les métaux dont le rôle catalytique est important comme:

Cuivre, Nickel, Cobalt, Zinc, Titane, Manganèse, Arsenic.

Teneur en phosphore: Le Phosphore a été dosé sous ses différentes formes: *Phosphore total* 1,934 %, *Phosphore lipidique* 0,5642 %, *Phosphore nucléique* 0,4161 %.

Lipides: Nous avons dosé dans la poudre de moelle osseuse l'insaponifiable (Cholestérine), puis les acides gras avec la détermination de leurs *différents indices.*

Azote: L'azote a été dosé sous ses formes différentes existant dans notre poudre de moelle osseuse, notamment : *azote total, azote soluble non albuminoïde, azote ammoniacal.*

Ferments solubles: Il ressort avec évidence de nos expériences, que la moelle osseuse renferme un grand nombre de ferments dont le rôle est d'une haute importance dans le métabolisme intraorganique. Certaines d'entre eux avaient déjà été signalés, mais nous sommes les premiers à avoir démontré la présence dans la poudre de moelle osseuse des ferments solubles suivants: *glycolase, arbutase, hélicase, désamidase, salicase, uréase, aldéhydase.*

Au cours de nos recherches, certaines méthodes ou techniques utilisés pour isoler, et doser différents minéraux et organiques, nous ont paru insuffisantes et nous les avons modifiés.

Nous avons ainsi obtenu de meilleurs résultats.

Nous avons eu l'occasion au cours de ces recherches de comparer les différents procédés de destruction des matières organiques avec l'aide des différents catalyseurs: Acide sulfurique en présence d'acide oxalique, ou d'oxalate de Potassium, ou de sulfate de cuivre, ou de sulfate de fer, ou de sulfate de Manganèse, ou de Mercure, ou de sulfate de Mercure, et au moyen de l'acide perchlorique en présence d'acide sulfurique. Parmi ces nombreux essais nous donnons la préférence au procédé de destruction par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium, qui nous a donné les meilleurs résultats.

Vu Strasbourg, le 3 juin 1933.
Le Président du Jury:
Dr E. LABORDE.

Vu et approuvé:
Strasbourg, le 3 juin 1933.
Le Doyen de la Faculté
de Pharmacie:
E. LOBSTEIN.

Vu et permis d'imprimer:
Strasbourg, le 10 juin 1933.
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université:
DRESCH.

BIBLIOGRAPHIE.

Cette bibliographie comporte pour chaque référence le nom de l'auteur, ou ceux des auteurs, le titre de la publication dans la langue originale, le titre du périodique souvent abrégé et en général trois chiffres correspondant respectivement à l'année, au tome et à la page initiale du tome.

Bertrand G. — Le dosage des sucres réducteurs. Bull. Sc. Pharmacol., 1907, page 7.

Bertrand G. et Médigreceanu F. — Recherches sur la présence du manganèse dans la série animale. Bull. Soc. Chimique, 1912, XI, p. 834, 857 et C. R. Acad Sc. 1912, CLIV, p. 1450.

Bertrand G. et Mme Rosenblatt. — Recherches et dosage de petites quantités de manganèse en particulier dans les substances organiques. Bull. Sc. pharmacol., 1911, p. 195, et Bull. Soc. Chimique, 1911, IX, p. 361.

Bertrand G. et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames. Bull. Soc. chimique, 1929, XLV, p. 1044.

Blanchetière A. — Sur une méthode de dosage du sodium. Bull. Soc. Chim., 1923, XXXIII, p. 807.

Byla P. et Pénau H. — Les produits biologiques médicinaux, 1921, Maloine et Fils, Edit., Paris.

Clarc. — The determination of hydrogen ions. Williams and Wilkins, Edit., Baltimore, 1922.

Damiens A. — Sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Bull. Soc. Pharmacol. XXVII, p. 6091, 1920.
Bull. Soc. Chim. Biol. III, 1921, p. 95.

Denigès G. — Précis de Chimie analytique, 1930-1931, Maloine et Fils, Edit., Paris.

Derrien E. et Fontès G. — Chimie biologique médicale, 1927, Baillière et Fils, Edit., Paris.

Faber F. — Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen. Chem. Zeitung, 1907, p. 263.

Fabre R. et Penau H. — Examens chimiques généraux de poudres opothérapiques. Journ. Pharm. Chim. (7), 1923, XXVII, p. 281.

— Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé. Journ. Pharm. et Chim. (8), 1926, III, p. 100.

Carola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse. Ann. des falsifications, 1917, p. 572.

Grabar P. — Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Chimie biologique, 1929, XI, p. 58.

Jadin F. et Astruc A. — La répartition du manganèse dans le règne végétal. Journ. Pharm. et Chimie 1913, VII p. 155.

Kahane E. — Le dosage de sodium par la méthode à l'uranyle. — Bull. Soc. chimique, 1930, XLVII, p. 382.

Laudat M. — Etudes des méthodes récentes de dosage du sodium et de leur application à la biologie. ull. Soc. Chimie biol., 1928, X, p. 757.

Lameland M.-P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. biol., 1921, III, p. 163, et 1923, V. p. 111.

Loeb W. et Higuchi S. — Zur Kenntnis der Placentaezyme. Biochem. Zeitschr., 1909, XXII, p. 316.

Lobstein E. — Recherches biochimiques sur le bacille tuberculeux. Th. Doct. ès-Sciences, Strasbourg, 1922.
Maeda K. — Fermente der Placenta. Biochem. Zeitschr., 1923, CXXXXIII, p. 361.
Mayer A. et Schaeffer G. — Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de Physiol. et Pathol. générale, 1913, XV, p. 510, 534, 775.
Nicloux M. — La micro-analyse organique quantitative. Bull. Soc. chimique, 1924, XXXV, p. 1041.
Oppenheimer C. — Die Fermente und ihre Wirkungen. 1913, Leipzig.
Parnas J. et Wagner R. — Ueber die Ausführungen von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Biochem. Zeitschrift, 1921, CXXV, p. 253.
Scagliarini G. et Pratesi P. — Méthode rapide de dosage du fer. Ann. chim. applic., 1921, XIX, cité par Bull. Soc. Chim. biol., 1929, XXXXVI, p. 1156.
Schaeffer Y. — Les ferments. 1929, Masson et Cie, Edit., Paris.
Schmiedeberg. — Ueber Oxyde und Synthesen im Tierkörper. Arch. für experm. Pathol., 1881, XIV, p. 288, 379, cité par C. Oppenheimer.
Schoen. — Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds zu Molybdaen- und Titansäure. Zeitschr. für analyt. Chemie, 1870, IX, p. 41, 330.
Soerensen et *Andersen.* — Zeitschr. für physikal. Chemie, 1905, XXXXIV, p. 488.
Streng. — Ueber die Ausführung einiger mikrochemischer Operationen und Reaktionen. Zeitschr. für analyt. Chemie, 1885, XXIII, p. 115, et Chem. Zentralblatt, 1886, p. 488.
Terroine E.-F., Lepage G., Véchot Y. et Wolff H. — La détermination des matières grasses dans les produits végétaux. Ann. des falsifications, 1927, p. 79.
Treadwell F.-P. — Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie. 1923, Deuticke, Edit., Leipzig und Wien.
Voit E. — Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweisstickstoffes. Zeitschrift für Biologie, 1926, LXXXIV, p. 153.
Walton. — Zeitschr. für analyt. Chemie, 1871, IX, p. 41, 330.
Weller A. — Recherche et dosage du titane. Ber. der chem. Gesellschaft, 1882, XV, p. 2592.
Yovanovitch A. — Microdosage de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chim. biol., 1925, VII, p. 665.

Table des Matières.

Avant-Propos 7

Quelques données générales sur la moelle osseuse 8

Détermination du P_H + de la poudre de moelle osseuse . 9

Etude de matières minérales 12

Dosage des Lipides 30

Recherches des Protides 35

Recherche des Glucides 39

Recherche des Ferments 41

Conclusions générales 60

Bibliographie 62